P. 3986

HALIOTIS

VOL. 26
1996 (1997)

issn 0397.765 x

SOCIETE FRANÇAISE DE MALACOLOGIE

Haliotis, revue de la Société Française de Malacologie, est ouverte à des articles originaux couvrant tous les aspects de l'étude des Mollusques. Son rythme de parution est en principe annuel, avec un ou plusieurs fascicules.

La soumission d'un manuscrit à *Haliotis* sous-entend qu'il n'est pas publié ou sous presse ailleurs. Les auteurs qui désireront utiliser ultérieurement des matériaux publiés dans *Haliotis* devront préalablement obtenir la permission de la S.F.M.

Soumission des manuscrits

Les textes doivent être saisis sous un traitement de texte d'usage courant. Il sera soumis dans un premier temps deux exemplaires tirés sur format A4 avec double interligne, ainsi que l'original et deux copies des illustrations. Les manuscrits sont à adresser au secrétariat général de la S.F.M., 55 rue Buffon, 75005 Paris, ou à un des membres du comité de rédaction.

Le manuscrit sera lu par un ou plusieurs spécialistes choisi(s) par le comité de rédaction, dont les commentaires seront adressés à l'auteur (sous forme anonyme ou non au choix du rapporteur). L'auteur a l'obligation de prendre en considération les commentaires du rapporteur et adressera s'il y a lieu une version révisée ainsi qu'une copie de la disquette de texte. Le comité de rédaction prendra, au vu des commentaires du rapporteur, une décision d'acceptation ou de refus du manuscrit.

Organisation du texte

- titre concis et informatif: pensez qu'il doit servir à l'indexation. Si le titre contient un nom de genre ou d'espèce peu connu, ce nom sera accompagné du nom d'un taxon supraspécifique
- prénoms (en entier) et noms des auteurs
- adresses des auteurs.
- "abstract" en Anglais, précédé du titre en Anglais.
- résumé (dans la langue du texte de l'article; en Français si l'article est écrit dans une autre langue) exposant les principaux résultats, mais pas de descriptions de taxa nouveaux éventuellement introduits dans l'article.
- texte proprement dit comprenant, dans cet ordre, Introduction, Matériel et méthodes, Résultats, Discussion, Conclusions, Remerciements, Bibliographie.

Les niveaux hiérarchiques de sous-titres seront limités le plus possible. Les sous-titres ne seront en aucun cas numérotés.

Illustrations

Seules les illustrations en noir et blanc seront prises en charge par la revue. Le surcoût des illustrations en couleur sera à la charge des auteurs.

Les illustrations doivent être de bonne qualité, prêtes à clicher. Les dessins seront de préférence réalisés à une dimension supérieure à leur taille finale, et seront accompagnés d'une photocopie réduite à la taille finale désirée par l'auteur. La dimension des lettrages utilisés devra tenir compte de cette réduction et leur taille une fois réduite sera au moins de 1,5 mm. Pour les tableaux et graphiques, des tirages d'imprimante laser ou à jet d'encre sur papier sont acceptables comme originaux. Les cartes devront faire figurer des coordonnées géographiques et avoir un cadre.

Les photographies seront montées avec leurs lettrages définitifs, à la dimension sous laquelle elles doivent être publiées. Les planches photographiques mesurent au maximum 16,5 x 23 cm.

Toutes les figures doivent être numérotées en une série unique, qu'il s'agisse de dessins, de photographies montées en planche ou de graphiques. Les tableaux (comportant exclusivement du texte ou des chiffres, à l'exclusion de graphiques) seront numérotés en une autre série. Les légendes des figures et des tableaux seront regroupées sur une feuille à part, et copiées également dans la disquette. Les auteurs pourront indiquer dans le texte la position souhaitée des figures et tableaux.

(suite sur la 3e page de couverture)

P. 3966

Haliotis **26**: 1-13 (1997) Société Française de Malacologie

Museum

Microalgues et nutrition larvaire en écloserie de mollusques

René ROBERT [1] *et Pascal TRINTIGNAC* [2]

ABSTRACT

Microalgae and larval feeding in mollusc hatchery

In mollusc hatchery the production of living phytoplancton is widely used to feed bivalve larvae. However, to be suitable, the algal cells must have a proper size, have an adequate nutritional value and be easy to produce at large scale. In this paper, the results of our recent work and that of other investigators in that field are reviewed and discussed.

RÉSUMÉ

La production de microalgues vivantes reste encore la seule technique fiable pour permettre l'alimentation des larves de mollusques bivalves en milieu contrôlé. Cependant, ces algues-fourrage doivent répondre à des exigences de taille, de valeur nutritive et de facilité de production en masse. L'état des connaissances actuelles dans ce domaine est présenté dans le présent travail où on dégagera qu'en fait peu d'espèces couvrent ces exigences.

INTRODUCTION

La conchyliculture française s'est réellement développée dès le milieu du siècle dernier avec la création des parcs ostréicoles et la mise au point des techniques de captage (Labrid, 1969). L'irrégularité du recrutement dans les zones d'exploitation, la difficulté de collecter en milieu naturel les juvéniles de certaines espèces, l'augmentation des problèmes pathologiques, ainsi que la dégradation de la qualité des eaux côtières ont amené les biologistes à développer les techniques de reproduction artificielle. Des écloseries ont été créées afin de maîtriser les processus de ponte, de fécondation, d'élevage larvaire et des nourriceries ont été mises en place pour assurer le prégrossissement du naissain.

Cole (1937) fut le premier à démontrer que certains flagellés unicellulaires pouvaient servir de nourriture à des larves de bivalves. Aujourd'hui, l'apport de microalgues, isolées du plancton marin

[1] IFREMER, Laboratoire de Physiologie des Mollusques, Unité Stade larvaire et juvénile, Ecloserie d'Argenton, Le Vivier, 29840 Landunvez, France.

[2] Laboratoire de Biologie et de Biotechnologies Marines, Université de Caen, IBBA, 14032 Caen, France.

BIBL. DU MUSÉUM PARIS

Tableau 1. Utilisation des algues-fourrage en écloserie de mollusques (a,b in Chrétiennot-Dinet *et al.*, 1986)

Algues-Fourrage	Fréquence d'utilisation (%)		
	(Walne, 1979) a	(Lucas, 1980) b	(Coutteau et Sorgelos, 1992)
Chaetoceros calcitrans	40	37.5	37
Chaetoceros gracilis	*	*	53
Dunaliella sp.	0	25	9
Isochrysis galbana	80	75	19
Isochrysis aff. galbana "Tahiti"	20	0	72
Nannochloropsis occulata	0	25	*
Pavlova lutheri	70	62.5	26
Phaeodactylum tricornutum	50	12.5	5
Pyramimonas virginica	0	37.5	*
Skeletonema costatum	20	12.5	14
Tetraselmis suecica	60	25	35
Thalassiosira pseudonana	40	62.5	33

* pas de donnée

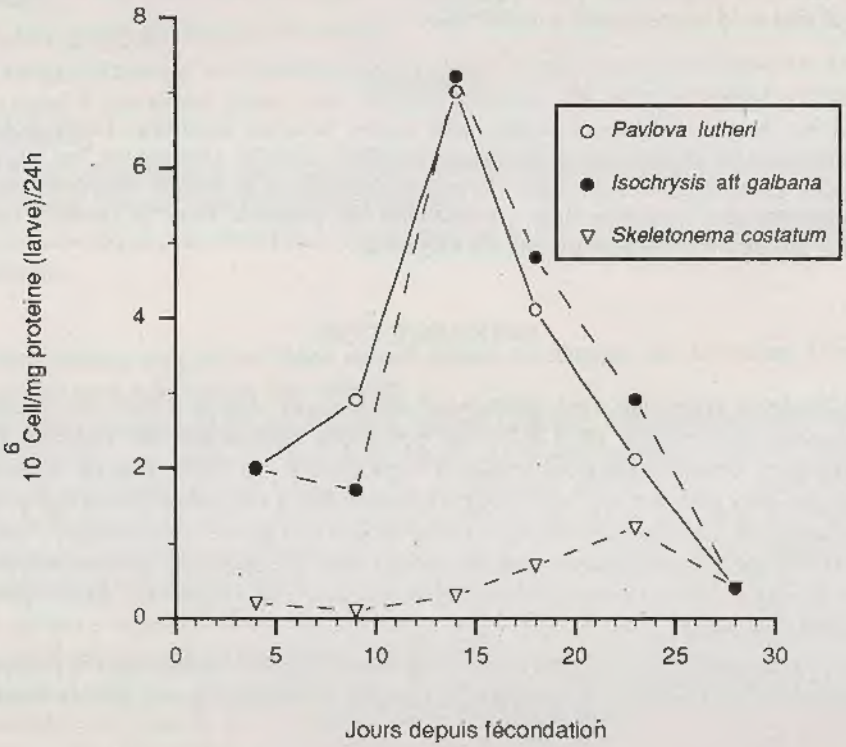


Fig. 1 : Taux journalier d'ingestion chez des larves de *Pecten maximus* en fonction de la ration alimentaire (d'après Séguineau *et al.*, 1993).

et mises en culture contrôlée, constitue la technique la plus courante pour alimenter les jeunes stades de mollusques marins. Mises au point dans les années 60 (Davis et Ukeles, 1961) ces productions phytoplanctoniques restent encore la seule technique appliquée, à ce jour, à l'échelle industrielle. Bien que de nouvelles voies aient été prospectées, aucune d'entres elles n'est actuellement suffisamment avancée pour se substituer à cette production classique. L'état des connaissances actuelles dans ce domaine est présenté dans le présent travail, dans lequel nous nous attacherons à préciser la notion de qualité nutritionnelle des microalgues.

CONTRAINTES D'UTILISATION DES ALGUES FOURRAGE

Une première synthèse des travaux relatifs à l'utilisation d'algues unicellulaires pour l'alimentation des larves et des juvéniles de bivalves met en évidence un décalage important entre le nombre d'algues testées, environ une cinquantaine, et le nombre restreint d'espèces, environ une dizaine, effectivement utilisé en écloserie de production (Chrétiennot-Dinet *et al.*, 1986). Bien que le nombre d'écloseries ait fortement augmenté depuis ces premières enquêtes, un récent sondage met en avant un nombre tout aussi limité d'algues-fourrage (Coutteau et Sorgeloos, 1992). Ces observations sont rapportées dans le tableau 1. Huit espèces, *Isochrysis galbana* clone T-iso, *I. galbana*, *Chaetoceros gracilis*, *C. calcitrans*, *Tetraselmis suecica*, *Thalassiosira pseudonana*, *Pavlova lutheri* et *Skeletonema costatum* représentent environ 90 % du volume algal produit en écloserie. T-iso et *C. gracilis* sont cependant devenues les algues les plus cultivées. L'utilisation de plus en plus fréquente de T-iso s'est faite au dépend d'*Isochysis galbana*. Leur succès s'explique par leur grande facilité de production, notamment pour des températures élevées, jusqu'à 30° C pour *C. gracilis* (Enright *et al.*, 1986a) et 32° C pour T-iso (Ewart et Pruder, 1981), en complément d'une bonne valeur nutritive. Pour d'autres microalgues, il existe des variantes géographiques. *T. pseudonana* est intensément utilisée aux U.S.A. (Robert, 1994) et *S. costatum* essentiellement cultivée en Europe (Baud et Bacher, 1990). Cependant, la taille, la valeur nutritive et la facilité de production en masse sont les trois facteurs retenus pour alimenter les jeunes stades chez les bivalves.

La taille

La taille représente un caractère incontournable. Rappelons que les échecs, subits par de nombreux écloseurs de la région du Pays de Loire, avec l'huître *Crassostrea gigas*, uniquement nourrie dès le stade D avec *Skeletonema costatum*, étaient dus à ce facteur. Cette taille doit être compatible avec celle de la larve ou du juvénile à nourrir. Les larves de bivalves sont des microphages dont la plus grande dimension varie le plus souvent entre 60 µm et 350 µm (Pontual *et al.*, 1996). Le faible diamètre de leurs bouche et œsophage empêche l'ingestion de particules de plus de 10 µm pour les jeunes stades (larves ≤ 130 µm de longueur moyenne) et de 30 µm pour les stades plus âgés (Riisgard *et al.*, , 1980 ; Fritz *et al.*, 1984 ; Baldwin et Newell, 1991). Ainsi des larves de *Crassostrea virginica* de 150, 180 et 300 µm de longueur ingèrent majoritairement des particules de 15,8, de 21,1 et de 27,4 µm respectivement (Baldwin *et al.*, 1991). Néanmoins, les microalgues ont des formes très différentes, souvent asymétriques. Elles sont régulièrement pourvues d'organes ou d'éléments annexes (flagelles, soies, coccolithes ...) rendant leur ingestion plus difficile. Des Prymnésiophycées comme *Isochrysis galbana* et T-iso (40 μm^3), *Pavlova lutheri* (30 μm^3) ou certaines diatomées comme *Chaetoceros calcitrans* forma *pumilum* (23 μm^3) ont une taille adéquate pour le nourrissage des larves D. Dès que les véligères sont au stade umboné (longueur ≥ 120 µm), des espèces plus grandes peuvent être ajoutées comme *Chaetoceros calcitrans* et *C. gracilis* (75-100 μm^3) ou *Tetraselmis tetrathele* et *T. suecica* (180-240 μm^3 ; Robert et His, 1987). Lorsque les larves dépassent la taille de 150 µm, des diatomés en chaîne comme *Skeletonema costatum* (10 à 50 µm de longueur pour des cultures brassées : Sauriau et Baud, 1994) peuvent également être utilisées. Elles sont même préférentiellement sélectionnées à une taille moyenne de 20 µm par des larves de *Pecten maximus* au delà du 15ème jour d'élevage (Fig. 1).

La valeur nutritive

Elle dépend à la fois de la digestibilité et de la qualité biochimique de l'algue. De plus, elle est fortement dépendante des besoins énergétiques de chaque espèce de bivalve.

En ce qui concerne la digestibilité il a été montré que certaines algues comme *Chlorella autotrophica, Phaeodactylum tricornutum, Nannochloris atomus* et *Stichococcus bacillaris* étaient ingérées par des larves de mollusques mais non digérées (Babinchack et Ukeles, 1979 ; Epifanio *et al.*, 1981 ; Robert, données non publiées). Pour l'expliquer, deux hypothèses sont avancées. La première concerne la nature et/ou l'épaisseur de la "paroi" bien que la plupart des algues n'ont pas de véritables parois. Les diatomées à thèque siliceuse sont moins digestes qu'une algue à simple "paroi" organique. Celles qui sont régulièrement employées pour nourrir des larves comme *Chaetoceros calcitrans* forma *pumilum, Thalassiosira pseudonana* ont une thèque fine. Aucun travail n'a montré l'existence d'enzymes capables de lyser cette thèque siliceuse et sa destruction s'effectue donc par mouvements mécaniques. D'autres algues à "parois" épaisses mais de nature cellulosique sont difficilement digérées par les larves de bivalves. C'est le cas des Prasinophycées comme *Tetraselmis suecica* ou des Chlorophycées en général. L'absence de matériel enzymatique approprié durant les premiers stades larvaires tel que les cellulases, explique la non digestion des "parois" (Babinchak et Ukeles, 1979). La deuxième hypothèse concerne la production de métabolites toxiques par certaines algues en particulier les Chlorophycées (Davis et Guillard, 1958). En règle générale, les cellules végétales chlorophylliennes sont capables de produire des milliers de molécules différentes regroupées en deux grandes classes fonctionnelles. Le groupe des métabolites primaires comprend toutes les molécules directement impliquées dans la structure et le fonctionnement d'une cellule (glucides, lipides, acides aminés, acides nucléiques). Le groupe des métabolites secondaires comprend une multitude de composés comme les phytohormones, les pigments ainsi que des médiateurs allélopathiques. Par définition, ce sont des substances produites par un végétal qui ont une action biochimique soit bénéfique soit destructrice sur d'autres organismes vivants. Selon la molécule d'origine, trois grandes classes ont été définies, les phénols, les isoprénoïdes et les alcaloïdes. Appartenant à cette dernière classe, le cyanure a été détecté chez *Chlorella sp.* (Dobremez *et al.*, 1995) qui pourrait expliquer de telles perturbations digestives. Quoiqu'il en soit, l'utilisation d'algues à "paroi" fine et non complexe est donc recommandée pour la nutrition des stades larvaires chez les bivalves. Chez les postlarves et les juvéniles, ces exigences sont moindres puisque le développement après métamorphose d'activités glucanasiques (amylase, cellulase, laminarase) ou lypolitiques facilite la digestion des "parois" des algues et de leurs substances de réserve (Masson, 1975 ; Boucaud-Camou *et al.*, 1985 ; Hily, 1985).

En ce qui concerne la qualité biochimique des microalgues, de nombreux auteurs ont montré que la quantité totale de glucides, de protéines ou de lipides n'explique pas les différences de valeur nutritionnelle (Brown *et al.*, 1989). Les travaux ont alors porté sur la composition en éléments essentiels (non synthétisés par la larve) tels que acides aminés, acides gras, vitamines et oligo-éléments.

La thréonine, la valine, la méthionine, l'isoleucine, la leucine, la phénylalanine, la lysine, l'histidine, l'arginine le tryptophane et la proline sont les acides aminés essentiels pour les bivalves (Harrison, 1975). Cependant, à quelques exceptions près, les algues-fourrage possèdent des acides aminés en proportion équivalente et leur teneur ne permettent donc pas d'expliquer les différences de qualité nutritive (Brown *et al.*, 1989).

La composition en acides gras des microalgues est très variable d'une espèce à une autre (Ackman, 1968 ; Ben-Amotz *et al.*, 1987, Volkman *et al.*, 1989). Chez les bivalves, quand la croissance est affectée, la composition lipidique est modifiée. L'importance nutritionnelle des acides gras varie suivant leur nature. Ainsi, *Dunaliella tertiolecta* très riches en C16 et C18 mais déficiente en C20 et C22 (caractéristiques appartenant à la majorité des chlorophycées dulçaquicoles et marines : Pohl, 1982 ; Dunstan *et al.*, 1992) apportée à des juvéniles de *Crassostrea gigas* ne permet pas une croissance correcte. Un complément de microcapsules enrichies en 20:5n-3 (acide eicosapentanoïque) et 22:6n-3 (acide docosahexanoïque) permet le rétablissement de cette

croissance (Langdon et Waldock, 1981). Dès les premiers stades larvaires, la larve s'alimente par endotrophie et utilise les triglycérides ovocytaires pour entre autre, constituer un stock d'AGPi pour la synthèse des phospholipides (Napolitano *et al.*, 1988). Dès le passage à l'exotrophie, les larves sont alors dans l'obligation d'incorporer des AGPi à longues chaînes supérieures à C18. En effet, la plupart des bivalves sont dans l'incapacité de bioconvertir les acides gras alimentaires (Kanazawa *et al.*, 1979 ; Tocher *et al.*, 1989). Bien que l'importance de ces acides gras dans le fonctionnement des membranes soit démontrée (Stubbs et Smith, 1984 ; Spector et Yorek, 1985 ; Delaunay *et al.*, 1992), la fonction spécifique des différents AGPi reste encore mal comprise. Les AGPi à 20 et 22 atomes de carbone et plus de 3 doubles liaisons (notamment les acides eicosapentanoïques et docosahexanoïques) sont les véritables acides gras essentiels pour la survie, la croissance et la reproduction des mollusques marins. Leur teneur dans les algues-fourrage représente, à ce jour, le paramètre biochimique le plus fiable pour expliquer les différences de qualité nutritionnelle (Langdon et Waldock, 1981 ; Enright *et al.*, 1986; Volkman *et al.*, 1989 ; Brown *et al.*, 1989 ; Renaud *et al.*, 1991).

Les vitamines majeures identifiées chez les microalgues marines sont la thiamine (B1), la riboflavine (B2), la pyridoxine (B6), la cyanocobalamine (B12), la biotine (H), l'acide ascorbique (C), l'acide nicotinique (PP), l'acide panthoténique, la choline, l'inositol, le tocophérol (E), le β carotène (provitamine A) et dans une moindre mesure la vitamine K (Brown *et al.*, 1989). La vitamine D n'est théoriquement pas synthétisée par les algues sauf lorsque celles ci sont fortement éclairées ce qui est le cas en écloserie. Les vitamines représentent une fraction mineure de la nourriture mais jouent un rôle très important puisqu'elles interviennent dans de nombreuses réactions métaboliques et physiologiques grâce, entre autres, à leurs propriétés réductrices. Les travaux concernant la composition vitaminique des microalgues marines utilisées en aquaculture sont récents (Fabregas et Herrero, 1990 ; De Roeck-Holzhauer *et al*, 1991). Ils montrent, d'une part, des variations importantes suivant les espèces et selon l'âge de la culture, et, d'autre part, une richesse relative en ces composés, excepté pour la riboflavine (B2) qui pourrait donc être limitante (Séguineau *et al.*, 1993). Cependant, les besoins spécifiques des bivalves en vitamines ainsi qu'en minéraux et en oligo-éléments demeurent inconnus actuellement. Outre la qualité intrinsèque d'une algue donnée, sa composition chimique varie en fonction du milieu de culture choisi (Wikfors *et al.*, 1984 ; Fabregas *et al.*, 1986) mais aussi en fonction de l'âge de la culture (Moal *et al.*, 1987 ; Fernandez - Reiriz *et al.*, 1989 ; Saoudi-Helis *et al.*, 1994) et des paramètres physiques de culture comme la température et l'intensité lumineuse (Mortensen *et al.*, 1988 ; James *et al.*, 1989 ; Sukenik *et al.*, 1989 ; Thompson *et al.*, 1992, 1993). Ainsi quand la température diminue, l'insaturation des acides gras augmente pour maintenir la fluidité membranaire. Quand l'intensité lumineuse diminue, les microalgues développent leur appareil photosynthétique constitué par une forte proportion de phospholipides et de glycolipides membranaires très insaturés pour capter l'énergie lumineuse.

Tous ces faits rendent particulièrement difficiles les comparaisons des données biochimiques dans la littérature. De plus, une confusion existe au niveau des souches dites différenciées géographiquement. Ainsi six souches d'*Isochrysis* sont actuellement utilisées sans que l'on soit réellement sûre de leur filiation (Wikfors et Patterson, 1994). Enfin, lorsque l'on cherche à corréler le développement larvaire avec la valeur alimentaire des microalgues apportées, un biais existe dans la plupart des expérimentations. En effet, les traitements biochimiques sont réalisés sur la seule population microalgale par séparation des phases solide et aqueuse alors que les larves sont généralement nourries avec la culture dans sa totalité. Bactéries et substances dissoutes ne sont donc pas pris en considération dans de telles analyses. Hors, on sait que certaines bactéries peuvent satisfaire des besoins métaboliques en fournissant des molécules organiques, des vitamines ou des enzymes (Prieur, 1982; Douillet, 1993).

En dehors des caractéristiques biochimiques du phytoplancton, la qualité nutritionnelle d'une algue reste étroitement liée à la fois à l'espèce de mollusque et à son stade de développement, notions que l'on peut regrouper sous le terme "besoins énergétiques" des larves. Ainsi *Crassostrea gigas* et/ou *Crassostrea virginica* sont particulièrement exigeantes et le nombre d'algues utilisables

pour les nourrir restreint. Les Mytilidés, comme *Mytilus edulis*, et les Vénéridés, comme *Tapes philippinarum* ou *Mercenaria mercenaria* sont plus tolérantes et donc susceptibles de se développer à partir d'un nombre plus important d'organismes phytoplanctoniques (Loosanoff et Davis, 1963 ; Robert, données non publiés). *Ostrea edulis* appartient à un groupe intermédiaire, plus tolérante que *C. gigas* mais plus exigeante que *M. edulis*.·En ce qui concerne les Pectinidés, il est plus difficile de dégager une tendance générale, chaque groupe d'espèces présentant des différences très marquées. Ainsi *Argopecten purpuratus* ou *Argopecten irradians* semblent moins exigeantes que *Pecten maximus* ou *Patinopecten yessoensis*. Trois critères peuvent être avancés pour expliquer cette notion de tolérance. Le premier est la taille de la larve à sa formation. Ainsi, chez l'huître plate la fécondation est interne et les larves ne sont libérées qu'au bout de 8 à 10 jours avec des longueurs (dimension parallèle à la charnière) initiales variant de 160 µm à 190 µm alors que chez l'huître creuse, la fécondation est externe et la larve nettement plus petite, environ 60-70 µm. Chez la palourde et la coquille St Jacques, également à fécondation externe, les larves sont plus grosses avec des longueurs comprises entre 90 et 110 µm. Le deuxième critère est la notion de réserve de la larve à sa formation. Ainsi, des larves de moules ou des larves de coquilles St Jacque ont des réserves lipidiques relativement importantes, visibles sous forme de gouttelettes à l'intérieur des jeunes véligères. Durant les premiers stades de développement de *P. maximus*, la larve s'alimente par endotrophie et utilise les triglycérides ovocytaires qui outre leur rôle énergétique, constituent un stock d'AGPi pour la synthèse des phospholipides (Napolitano *et al.*, 1988 ; Delaunay *et al.*, 1992). Au niveau des réserves lipidiques, l'influence de l'apport de nourriture ne se traduit chez *Pecten maximus* qu'à partir du sixième jour (Delaunay *et al.*, 1992), démontrant ainsi l'importance des réserves initiales. De ce fait la longévité de telles larves est importante, prés de 3 semaines à jeun (Fig. 2). Chez *Crassostrea virginica et C. gigas* de telles réserves lipidiques issues de la vitéllogénèse ont été également mises en évidence (Gallager et Mann, 1986). Cependant, elles sont moindres et le passage à l'exotrophie se fait donc plus rapidement, au bout de 3 à 4 jours. La mise à jeun de ce type de larves conduit très rapidement à des mortalités, au bout de 5 à 8 jours (Fig. 3). Le troisième critère est la demande énergétique de la larve qui est différente selon l'espèce considérée. Pour une durée d'élevage larvaire similaire, une façon simple d'appréhender cette notion est l'effet croissance nécessaire. Elle correspond à la différence entre la taille initiale de la larve et celle obtenue à la métamorphose. Ainsi, chez *P. maximus*, la métamorphose se déroule lorsque les larves ont atteint 250 µm de longueur. Mesurant environ 100 µm à sa formation, le coefficient de croissance pendant le cycle larvaire est donc de 2,5. Chez *C. gigas*, la métamorphose se déroule à environ 300 µm soit un coefficient de croissance de 5. Les besoins nutritifs sur le plan quantitatif sont donc plus importants chez l'huître. Ainsi l'optimum de croissance est observé pour une ration de 100 000 cellules de microalgues par ml d'eau d'élevage chez *Crassostrea gigas* et de 60 000 pour *Pecten maximus* (Robert *et al.*, 1994 a). Cependant quelle que soit l'espèce de mollusque considéré et/ou son stade, une ration algale monospécifique permet un moindre développement qu'un apport plurispécifique (Fig. 4). Tous les auteurs reconnaissent ainsi la supériorité d'une nourriture plurialgale qui peut s'expliquer par une complémentarité des besoins essentiels et qui constitue l'hypothèse privilégiée (Helm, 1977 ; Chu *et al.*, 1982 ; Delaunay *et al.*, 1992). Elle pourrait aussi s'expliquer par une augmentation de la prise alimentaire par les larves comme l'a démontré Gerdes (1983).

La facilité de production

Les caractéristiques physiques de la culture tiennent une place prépondérante en écloserie commerciale où les productions phytoplanctoniques peuvent atteindre 20 m^3 par jour (Robert, 1994) L'utilisation de T-iso comme algue-fourrage à la place d'*Isochrysis galbana* pourtant plus nutritive (Helm et Laing, 1987) est due à sa plus grande facilité de production notamment pour des températures supérieures à 20° C. *Skeletonema costatum* est également appréciée dans nos régions car elle peut supporter des températures relativement basses (inférieures à 10° C) et peut être produite sans difficultés majeures en grands volumes extérieurs. En zone tropicale, *Chaeotoceros gracilis* est prisée car elle est bien adaptée aux fortes températures y compris en culture extérieure.

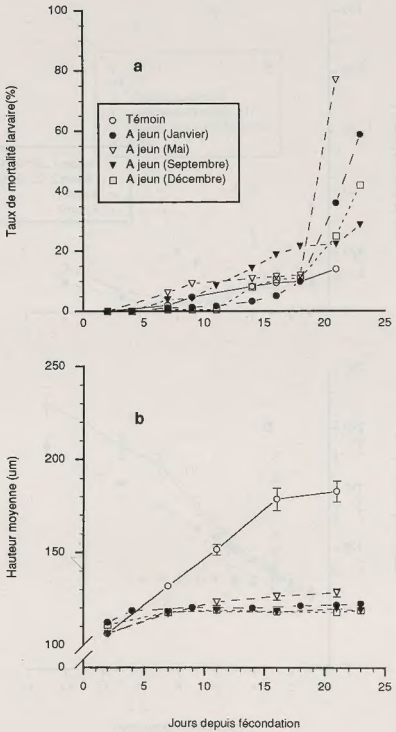


Fig. 2 : Mortalité (a) et croissance larvaire (b) de différents lots de *Pecten maximus* maintenue à jeun en écloserie d'Argenton à différentes époques de l'année (d'après Robert *et al.*, 1994 b)

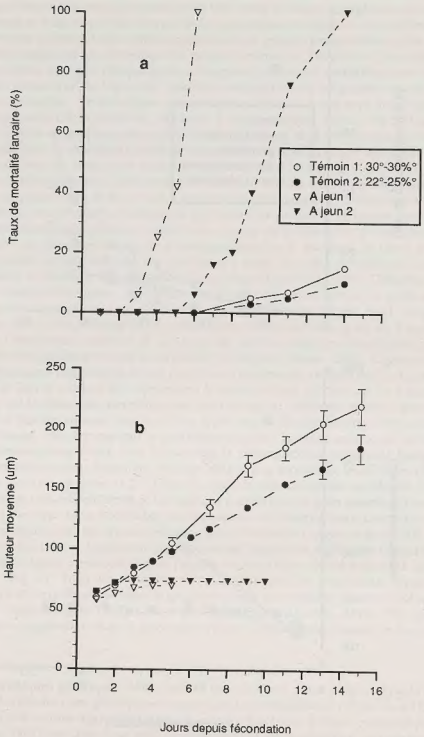


Fig. 3 : Mortalité (a) et croissance larvaire (b) de *Crassostrea gigas* maintenue à jeun en écloserie et exposée à deux différentes combinaisons température-salinité (d'après His et Seaman, 1992).

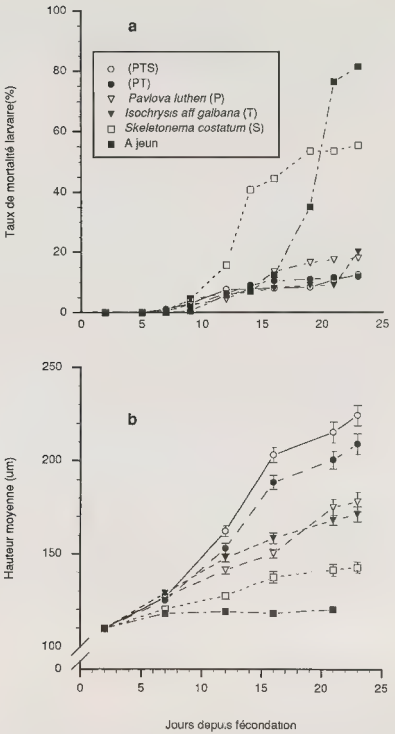


Fig. 4 : Mortalité (a) et croissance larvaire (b) de *Pecten maximus* alimentée soit en régime plurispécifique (PTS : *Pavlova lutheri*, *Isochrysis* aff. *galbana* et *Skeletonema costatum* ou PT : *Pavlova lutheri* et *Isochrysis* aff. *galbana*), soit en régime monospécifique (*Pavlova lutheri* ou *Isochrysis* aff. *galbana* ou *Skeletonema costatum*) ou maintenue à jeun (d'après Robert *et al.*, 1994 b).

A l'inverse, *Tetraselmis suecica*, de bonne valeur alimentaire pour les stades âgés, est peu cultivée car elle adhère aux parois et rend plus difficile le nettoyage des enceintes de culture. D'une façon générale, on peut remarquer que les espèces de très bonne qualité nutritionnelle sont nettement plus fragiles que les autres C'est le cas de *Chaetoceros calcitrans* forma *pumilum*, d'*I. galbana*, et dans une moindre mesure de *Pavlova lutheri* et de *Chaetoceros calcitrans*. Un compromis entre facilité de culture et qualité nutritive est généralement adopté en écloserie industrielle avec des productions phares comme T-*iso*, *C. gracilis* ou *S. costatum*

DISCUSSION ET CONCLUSION

Pour servir de nourriture aux larves de mollusques bivalves, les microalgues doivent être avant tout ingérées, donc être de taille adéquate. Pour être digérées, elles doivent posséder une "paroi" ou une thèque siliceuse fine et/ou la larve doit être équipée de l'équipement enzymatique ad hoc. Pour être de bonne qualité alimentaire elles doivent répondre aux exigences de l'espèce au stade de développement considéré. La composition en acides gras polyinsaturés, à 20 et 22 atomes de carbone et à plus de 3 doubles liaisons (notamment les acides eicosapentanoiques et docosahexanoiques) des algues-fourrage représente actuellement le paramètre biochimique le plus fiable pour expliquer les différences de qualité nutritionnelle. Cependant, aucune corrélation directe n'a été mise en évidence entre quantité d'acide gras polyinsaturé et gain de croissance larvaire. De plus, les conditions de culture des microalgues peuvent fortement influencer cette teneur en acides gras et il serait donc imprudent d'apprécier sur ce seul critère la valeur alimentaire d'une espèce de microalgue. A l'heure actuelle, aucun régime alimentaire monospécifique n'a donné de résultats comparables à un régime plurispécifique de façon reproductible et tous les auteurs reconnaissent ainsi la supériorité d'une nourriture plurialgale. Enfin, en écloserie commerciale, la facilité de production tient une place prépondérante et généralement un compromis est trouvé entre ce paramètre et la qualité alimentaire de la microalgue Cette dernière prédominera pour l'alimentation des larves tandis que pour les juvéniles et les géniteurs la facilité de culture prédominera. En effet, chez les juvéniles, la croissance est largement influencée par la quantité de nourriture disponible. La taille des microalgues n'est plus un facteur limitant et les juvéniles sont dotés d'un équipement enzymatique plus complet. De ce fait, l'élevage postlarvaire s'effectue généralement dans des systèmes ouverts avec des filtrations comprises entre 10 et 50 µm (clos pour les larves) autorisant un apport extérieur de nourriture. En ce qui concerne les géniteurs, la problématique est autre Il ne s'agit pas de favoriser une croissance mais d'assurer une gamétogénèse qui est déclenchée par une augmentation de température. Or, placés à des températures élevées, les besoins nutritionnels des animaux sont importants sur le plan quantitatif (Nell et Wisely, 1984) et, là aussi, la quantité de nourriture disponible est considérée comme primordiale. Cependant, il a été montré récemment que malgré des régimes algaux de différente nature, des géniteurs de *Pecten maximus* maintenaient constants leur taux de 20 5n-3, de 20 4n-6 et de 22 6n-3, ces deux derniers intervenant respectivement dans la gamétogénèse et l'embryogénèse (Soudant *et al.*, 1996).

BIBLIOGRAPHIE

Ackman R G , Tocher C S & McLachlan J. 1968. Marine phytoplankter fatty acid *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*, **25**: 1603-1620.

Babinchak J & Ukeles R 1979 Epifluorescence microscopy, a technique for the study of feeding in *Crassostrea virginica* veliger larvae. *Marine Biology*, **51** 69-76.

Baldwin B S & Newell R. 1991 Omnivorous feeding by planktotrophic larvae of the Eastern oyster *Crassostrea virginica*. *Marine Ecology, Progress Series*, **78**: 285-301

Baud J.P. & Bacher C 1990. Use of ground saline water for intensive rearing of *Ruditapes philippinarum* juveniles in a nursery system. *Aquaculture*, **88**: 157-178.

Ben-Amotz A , Fishler R & Schneller A 1987 Chemical composition of dietary species of marine unicellular algae and rotifers with emphasis on fatty acids. *Marine Biology*, **95**: 31-36

Boucaud-Camou E., Lebesnerais C., Lubet P. & Lihrmann I. 1985. Dynamique et enzymologie de la digestion chez l'huître *Crassostrea gigas* (Thunberg). *Bases biologiques de l'Aquaculture*, Colloque IFREMER, **1** 75-96.

Brown M.R., Jeffrey S W. & Garland C D. 1989. Nutritional aspects of microalgae used in mariculture ; a literature review. *CSIRO Marine Laboratories Report*, **205**: 44 p

Chrétiennot-Dinet M J., Robert R. & His E. 1986. Utilisation des algues-fourrage en aquaculture. *Année Biologique*, **25**: 97-119.

Chu F E, Dupuy J L. & Webb K.L. 1982. Polysaccharide composition of five algal species used as food for larvae of the American oyster, *Crassostrea virginica*. *Aquaculture*, **29** 241-252.

Cole H.A. 1937 : Experiments in the breeding of oyster (*Ostrea edulis*) in tanks, with special reference to the food of the larva and spat. Ministry of Agriculture and Fishery *Fishery Investigation of London*, Ser. 2, **15**: 1-24

Coutteau P. & Sorgeloos P. 1992. The use of algal substitutes and the requirement for live algae in the hatchery and nursery rearing of bivalve molluscs : an international survey. *Journal of Shellfish Research*, **11**: 467-476

Davis H.C. & Guillard R R 1958 Relative value of ten genera to micro-organisms as food for oyster and clam larvae. *United State Fishery and Wildlife Service Fishery Bulletin*, **136**(58): 293-304.

Davis H.C & Ukeles R. 1961 Mass culture of phytoplankton as foods for Metazoans *Science*, **134**: 562-564

Delaunay F, Marty Y, Moal J. & Samain J.F 1992 Growth and lipid class composition of *Pecten maximus* larvae growth under hatchery conditions. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, **163**: 209-219.

De Roeck-Hozhauer Y, Quere I & Claire C 1991. Vitamin analysis of five planktonic microalgae and one macroalgae *Journal of Applied Phycology* **3**. 259-264.

Dobremez J F, Gallet C. & Pellissier F 1995 Guerre chimique chez les végétaux *La Recherche*, **279**(26) 912-920

Doullet P. & Langdon C.J. 1993 Effects of marine bacteria on the culture of axenic oyster *C. gigas* (Thunberg) larvae. *Biological Bulletin*, **184**. 36-51.

Dunstan G.A., Volkman J K., Jeffrey S.W & Barret S.M. 1992. Biochemical composition of microalgae from the green algal classes Chlorophyceae and Prasinophyceae 2 Lipid classes and fatty acids *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, **161**: 115-134

Enright C. T., Newkirk G F, Craigie J S & Castell J.D. 1986. Evaluation of phytoplankton as diets for juvenile *Ostrea edulis* *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, **96**: 1-13.

Epifanio C E, Valenti C.C & Turk C L. 1981 A comparison of *Phaeodactylum tricornutum* and *Thalassiosira pseudonana* as foods for the oyster *Crassostrea virginica*. *Aquaculture*, **23**: 347-353.

Ewart J W. & Pruder G D. 1981 Comparative growth of *Isochrysis galbana* Parke and *Isochrysis* aff. *galbana* clone T Iso at four temperatures and three light intensities. *Journal of World Mariculture Society*, **12** 33-339

Fabregas J. & Herrero C. 1990. Vitamin content of four marine microalgae. Potential use as source of vitamins in nutrition. *Journal of Industrial Microbiology*, **5**: 259-264

Fabregas J., Herrero C , Cabezas B & Abalde J 1986 Biomass production and biochemical composition in mass cultures of the marine microalga *Isochrysis galbana* Parke at varying nutrient concentrations *Aquaculture*, **53**: 101-113.

Fernandez-Reiriz M J., Perez-Camacho A , Ferreiro M J , Blanco J , Planas M , Campos M J & Laberta U 1989 Biomass production and variation in the biochemical profile (total protein, carbohydrates, RNa, lipids and fatty acids) of seven species of marine microalgae. *Aquaculture*, **83** 17-37.

Fritz L.W , Lutz R A , Foote M.A , Van Dover C L & Ewart J W 1984 Selective Feeding and grazing rates of oyster (*Crassostrea virginica*) larvae on natural phytoplankton assemblages *Estuaries*, **7**(4B): 513-518.

Gallager S M & Mann R 1986 Growth and survival of larvae of *Mercenaria mercenaria* and *Crassostrea virginica* relative to broodstock conditioning and lipid content of eggs. *Aquaculture*, **56**: 105-121.

Gerdes D 1983 The Pacific oyster *Crassostrea gigas* Part I Feeding behaviour of larvae and adults *Aquaculture*, **31**: 195-219.

Harrison C. 1975. The essential amino acids of *Mytilus californianus*. *The Veliger*, **18**: 189-193.

Helm M M 1977. Mixed algal feeding of *Ostrea edulis* larvae with *Isochrysis galbana* and *Tetraselmis suecica*. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, **57**: 1019-1029.

Helm M.M. & Laing I 1987. Preliminary observations on the nutritional value of "Tahiti Isochrysis" to bivalve larvae. *Aquaculture*, **62**: 281-288.

Hily A. 1985 Etude histoenzymologique de la digestion chez *R. philippinarum*. Bases biologiques de l'aquaculture, Montpellier, 1983, *IFREMER, Actes de Colloques*, **1**: 97- 108

His E. & Seaman M.N.L 1992. Effects of temporary starvation on the survival and on subsequent feeding and growth of oyster (*Crassostreas gigas*) larvae. *Marine Biology*, **114**: 277-279.

James C.M., Al-Hinty S. & Salman A. E. 1989 Growth and w3 fatty acid and amino acid composition of microalgae under different temperature regimes. *Aquaculture*, **77**: 337-351.

Kanazawa A , Teshima S. & Ono K 1979 Relationship between essential fatty acid requirements of aquatic animals and the capacity for bioconversion of linolenic acid to highly unsaturated fatty acids. *Comparative Biochemistry and Physiology*, **B63**· 295-298.

Labrid C. 1969. *L'ostréiculture et le bassin d'Arcachon*. Bordeaux Ferret & Fils Ed., 215 p.

Langdon C J. & Waldock M.J. 1981 The effect of algal and artificial diets on the growth and fatty acid composition of *Crassostrea gigas* spat *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, **61**· 431-448.

Loosanoff V L & Davis H.C 1963. Rearing of bivalve molluscs. In *Advances in Marine Biology*, (Russel F.C. Ed.) Academic. Press, N.Y.: 1-136.

Lucas A., 1980. Problèmes de génétique, d écophysiologie et de pathologie dans les écloseries de bivalves. *Oceanis*, **6**. 511-533.

Masson M. 1975. *Etude expérimentale de la croissance et de la nutrition de* Mytilus galloprovincialis Thèse de 3ème cycle, Université de Caen, 125 p.

Moal J., Martin-Jézéquel V , Harris R.P., Samain J F & Poulet S A 1987. Interspecific and intraspecific variability of chemical composition of marine phytoplankton *Oceanologica Acta*, **10**: 339-346.

Mortensen S H , Borsheim K.Y., Rainuzzo J.R. & Knutsen G 1988. Fatty acid and elemental composition of the marine diatom *Chaetoceros gracilis* Schutt : Effect of silicate deprivation, temperature and light intensity. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, **122**· 173-185.

Napolitano G.E., Ratnayake W M.N. & Akman R G , 1988. Fatty acid components of larval *Ostrea edulis* (L.) importance of triacylglycerols as a fatty acid reserve. *Comparative Biochemistry and Physiology*, **90B**(4) 875-883

Nell J.A. & Wisely B., 1984 Experimental feeding of Sydney rock oysters (*Saccostrea commercialis*). Food concentration and fattening procedures. *Aquaculture*, **37**: 197-208.

Pohl P. 1982. Lipids and fatty acids of microalgae. In: *CRC Handbook of Biosolar Resources* (Mitsui A. & Black Jr, C.C., Eds.) : 383-404. CRC Press, Boca Raton.

Pontual H., Robert R. & Miner P., sous presse Study of bivalve larval growth using image processing. *Aquacultural Engineering* .

Prieur D., 1982. Les bactéries hétérotrophes dans les élevages expérimentaux et industriels de larves de bivalves marins. *Oceanis*, 8. 437-457

Renaud S.M., Parry D.L., Thinh L.-V., Kuo C, Padovan A & Sammy N., 1991. Effect of light intensity on the proximate biochemical and fatty acid composition of *Isochrysis* sp and *Nannochloropsis oculata* for use in tropical aquaculture. *Journal of Applied Phycology*, **3**: 43-53.

Ruisgard H. U , Randlov A & Kristensen P. S 1980. Rates of water processing, oxygen comsumption and efficiency of particle retention in veligers and young postmetamorphic *M edulis*. *Ophelia*, **19** 37-47.

Robert R 1994 Visite de trois écloseries industrielles de mollusques bivalves dans l Etat de Washington et en Colombie Britannique : Rôle et importance. *Equinoxe*, **50** : 19-31.

Robert R. & His E 1987. Croissance et spectre de taille de six algues utilisées pour la nutrition des larves de bivalves en écloserie, en culture non renouvellée *Revue des Travaux de l'Institut des Pêches maritimes*, **49**(3-4): 165-173.

Robert R , Miner P , Mazuret M & Connan J.P 1994 a. L'écloserie expérimentale de mollusques d'Argenton. Bilan et perspective. *Equinoxe*, **49**: 20-33

Robert R., Miner P., Connan J. P & Mazuret M., 1994 b Effect of preserved algae on *Pecten maximus* and *Crassostrea gigas* larval development. Microalgae Biomass from Photobioreactors as Food for Fish and shellfish larvae (MANTA). *European Community Program, Progress Report of the second year, AIR1-CT92-0286*, **22**. 1-22.

Saoudi-Helis L., Dubacq J.P., Marty Y , Samain J.F & Gudin C. 1994. Influence of growth rate on pigment and lipid composition of the microalga *Isochrysis* aff. *galbana T iso. Journal of applied Phycology*, **6**: 315-322

Sauriau P.G. & Baud J.P. 1994. Artificial filament breakage of the diatom *Skeletonema costatum* intended for mollusc aquaculture. *Aquaculture*, **123**: 69-81.

Seguineau C., Laschi-Loquerie A., Leclerc M , Samain J.F., Moal J. & Fayol V. 1993 Vitamin transfer from algal diet to *Pecten maximus* larvae. *Journal of Marine Biotechnology*, **1**: 67-71.

Soudant P., Marty Y., Moal J., Robert R , Quéré C., Le Coz J.R. & Samain J F. 1996. Effect of food fatty acid and sterol quality on *Pecten maximus* gonad composition and reproduction process. *Aquaculture*, **143**: 361-378.

Spector A.A & Yorek M.A. 1985 Membrane lipid composition and cellular function. *Journal of Lipid Research*, **26**: 1015-1035.

Stubb C.D & Smith A.D. 1984 The modification of mamalian membrane polyunsaturated fatty acid composition in relation to membrane fluidity and function *Biochemical and Biophysical Acta*, **779**: 89-137

Sukenik A., Carmeli Y. & Berner T 1989. Regulation of fatty acid composition by irradiance level in the Eustigmatophyte *Nannochloropsis* sp. *Journal of Phycology*, **25**: 686-692.

Thompson P.A., Guo M. & Harrison P.J. 1993. The influence of irradians on the biochemical composition of three phytoplankton species and their nutritional value for larvae of the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*). *Marine Biology*, **117**: 259-268.

Thompson P.A , Guo M., Harrison P J. & Whyte J.N C 1992. Effects of variation in temperature. II. On the fatty acids composition of eight species of marine phytoplankton. *Journal of Phycology*, **28**: 488-497.

Tocher D R , Carr J. & Sargent J.R. 1989. Polyunsaturated fatty acid metabolism in fish cells : differential metabolism of (n-3) and (n-6) series acids by cultured cells originating from a freshwater teleost fish and from a marine teleost fish *Comparative Biochemistry and Physiology*, **94B**: 367-374.

Volkman J.K., Jeffrey S.W , Rogers G.I., Nichols P.D. & Garland C.D 1989. Fatty acids and lipids classes of ten species of microalgae used in mariculture. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, **128**: 219-240.

Walne P.R , 1979. *Culture of bivalve molluscs. 50 years experience at Conwy* Second edition. Fishing News Books Ltd, Farnham, Surrey, England: 189 p.

Wikfors G.H. & Patterson G W., 1994 Differences in strains of *Isochrysis* of importance to mariculture. *Aquaculture*, **123**: 127-135.

Wikfors G H., Twarog J.W & Ukeles R. 1984 Influence of chemical composition of algal food sources on growth of juvenile oyster, *Crassostrea virginica. Biological Bulletin*, **167**. 251-263.

Effet de l'addition de terre aux aliments composés pour escargots sur la croissance de *Helix aspersa maxima*

A. DE GRISSE[1], *J. DEFLOOR*[1] *et F. VERCAUTEREN*[1]

RÉSUMÉ

Douze mélanges d'aliments composés ont été comparés sur la croissance de l'escargot *Helix aspersa maxima* (Gros gris) Des aliments composés pour escargots ont été mélangés avec différents additifs (terre, tourbe, SiO_2, $CaCO_3$). Chaque mélange a donné une amélioration de la croissance. En utilisant les différents additifs comme substrat de mouvement et en donnant l'aliment composé sans additif, l'amélioration de croissance est inférieure à celle obtenue avec le mélange.

La stérilisation des additifs utilisés n'améliore pas la croissance.

SUMMARY

Effects of the addition of soil to composite diets for snails on the the growth rate of *Helix aspersa maxima*

Twelve high energy diets for the edible snail *Helix aspersa maxima* (Gros gris - Large grey snail) were compared in three experiments with two or three replications of ten snails in transparant plastic boxes on synthetic substrate or soil. The nine artificial diets mixed with organic (peat or leaf mold) or inorganic materials (sand, sandy lime, $CaCO_3$) resulted in an increase of the growth as well on synthetic substrate as on soil. 25% SiO_2 (fraction < 250 mm) is advised as most homogeneous and clean dilution-substance.

The mixed diet gave a better growth than the non mixed on artificial creeping substrate (hors sol) and on soil as creeping surface. Mixing the diet with sterile substrate does not increase the growth rate.

It is possible to obtain after three months on soil or in the absence of soil as creeping substrate an average weight of 15 g with 7.5 g of the diet mixture. The highest daily increase (± 0.7 g) occured between the tenth and the eleventh week of age.

INTRODUCTION

L'influence bénéfique d'une présence de terre sur la croissance des escargots à été démontrée par plusieurs auteurs (Crowell, 1973; Heller *et al.*, 1983; Gomot *et al.*, 1986, 1989; Jess *et al.* 1989; Albuquerque , 1990; Defloor, 1991; Vercauteren, 1992).

Newell (1967) décrit le rôle important des escargots (et limaces) dans la formation d'agglomérats stables de terre, d'une part par la sécrétion de mucoproteines pendant leur mouvement et d'autre part à cause des excréments mélangés à la terre.

Certains éléments peuvent être absorbés par le tégument du pied. Dans un élevage hors sol, cette possibilité leur échappe et cela pourrait influencer négativement leur croissance. Gomot *et al.*,

[1] Vakgroep Gewasbescherming, RUG, Coupure Links 653, B-9000 Gent (Belgique)

(1989) ont démontré que dans un élevage hors sol, la croissance est meilleure quand les escargots ont la possibilité de manger de la terre, même s'ils ne peuvent pas atteindre la terre avec leur pied.

Le but de cette recherche à été de voir si, au lieu de donner aux escargots dans un élevage hors sol des récipients avec de la terre, il ne serait pas plus intéressant de mélanger la nourriture avec de la terre sèche.

En même temps, une étude a été faite sur l'indice de consommation et le taux de consommation journalier.

MATÉRIELS ET MÉTHODES

Trois expériences ont été faites avec des jeunes escargots (*Helix aspersa maxima*) de quatre à cinq semaines, placés dans des boîtes transparentes de longueur x largeur x hauteur = 15 cm x 20 cm x 5 cm (950 cm^2 de surface de collage) (De Craemer *et al.*, 1987). Toutes les expériences ont été faites sur substrat artificiel humide (tissu synthétique non tissé), excepté une expérience dans laquelle deux boîtes ont été placées sur de la terre comme substrat (Première expérience : A_2).

Les expériences ont été faites en trois répétitions de 10 escargots (densité de 315 escargots par m^2), excepté pour la première ou seulement deux répétitions ont été faites.

330 escargots ont été utilisés pour comparer les douze mélanges, dont 60 dans la première expérience (trois mélanges A), 150 dans la deuxième expérience (cinq mélanges B) et 120 dans la troisième expérience (quatre mélanges C) Leur âge au début et à la fin des expériences est indiqué dans le Tableau 3 et les figures 1 à 6. Selon l'expérience, les infantiles avaient reçu la même nourriture A_0, B_0 ou C_0 du premier jour jusqu'à la semaine ou l'expérience commencait, c'est à dire jusqu'à la semaine quatre, cinq ou six.

Les conditions expérimentales étaient de ± 95% humidité relative, 20 à 21°C et 24 heures d'obscurité (excepté trois fois par semaine pendant le nettoyage et le nourrisage).

Tableau 1. Composition des aliments de base I et II

Composants	**Aliment de base I (g)**	**Aliment de base II (g)**
Tourteau de soja 40	400	300
Farine de mais	100	200
Mélasse sur germes de mais	120	100
Luzerne	50	50
$CaCO_3$	250	250
Phosphate bicalcique	20	20
NaCl	20	20
Poudre de lait pour brébis	40	-
Farine de hareng	-	50
Vit. C	-	5
Analyse brute	**%**	**%**
Matière sèche	91.6	92.2
Cendres brutes	31.2	31 .
Protéines brutes	22.3	20 3
Amidon et sucres	14.3	18.2
Matières grasses	1.3	2.0
Cellulose brute	5.6	4.7
Ca	10	8.5
P	0.6	0.63

Les mélanges ainsi que la composition des aliments de base et des mélanges minéreaux-vitaminés (les praemix) sont indiqués dans les Tableaux 1, 2 et 3.

Les aliments de référence A_0, B_0 et C_0 sont les aliments composés non mélangés.

Afin de préserver la quantité des minéraux et vitamines, le pourcentage du praemix est le même dans tous les aliments comparés d'un même essai (Tableau 3).

L'additif (tourbe et sable argileux) des aliments B_2 et B_4 a été stérilisé pour démontrer une influence éventuelle de la microfaune et flore du sol. La stérilisation s'est faite à 115°C durant 24 heures.

Tableau 2 Composition des mélanges minéraux-vitaminés (Praem.x) 'Groeikern 100' et 'Eurostart 150' mélangés à 10% ou 15% aux aliments de base I ou II pour la préparation des aliments de références A_0, B_0 et C_0.

Vitamines minéraux	Groeikern 100 (selon label)	Eurostart 150 (selon analyse)
Vit. A	150 UI/g	105 UI/g
Vit. D_3	20 UI/g	20.9 UI/g
Vit. E	460 ppm	262 ppm
Vit. K_3	15 ppm	3.9 ppm
Vit. B_1	20 ppm	4.2 ppm
Vit. B_2	50 ppm	38.5 ppm
Vit. B_3	150 ppm	126 ppm
Vit. B_6	30 ppm	10.5 ppm
Vit. B_{12}	0.25 ppm	0.175 ppm
Vit. PP	300 ppm	193 ppm
Vit. C	450 ppm	
Acide folique	2.5 ppm	2 6 ppm
Choline chloride	3740 ppm	5276 ppm
Ca	6.15%	4.4%
P	2.35%	1.5%
Mg	1300 ppm	3000 ppm
Na	7500 ppm	8000 ppm
Fe	2000 ppm	1528 ppm
Cu	1650 ppm	1060 ppm
Mn	475 ppm	248 ppm
Co	10 ppm	6.7 ppm
Zn	1000 ppm	632 ppm
I	20 ppm	6.5 ppm
Se	4 ppm	1.9 ppm
NaCl	3%	3.6%
Olaquindox	500 ppm	333 ppm
Etoxyquine/BHT	200 ppm	500 ppm

Tableau 3 . Composition (en pourcentage) des aliments de croissance utilisés, substrat utilisé, poids moyen (en g) à la fin des observations (âge en semaines) et indice de consommation. Deux (A) ou trois (B et C) répétitions de 10 escargots (*Helix aspersa maxima* · Gros gris) ont été faites dans des boîtes en plastique transparent (5x20x15 cm) sur substrat artificiel humide (SAH) ou terre (A_7) (s.a. · sable argileux)

Aliment composé de croissance	Aliment de base I	Aliment de base II	Praemux Groeikern 100	Praemux Furostart 150	Additif	Substrat	Age en semaines	Poids moyen	Indice de consommation
A_0	90	-	10	-	-	SAH	13	15.06	
A_1	80	-	10	-	10 s.a. $_1$	SAH	13	22.08	1.3
A_2	90	-	10	-	-	terre	13	16.20	
B_0	85	-	-	15	-	SAH	10	12.57	0.46
B_1	75	-	-	15	10 s.a $_2$	SAH	10	14.98	0.48
B_2	75	-	-	15	10 s.a. $_2$ stérile	SAH	10	14.30	0.58
B_3	75	-	-	15	10 tourbe	SAH	10	13.64	0.48
B_4	75	-	-	15	10 tourbe stérile	SAH	10	14.21	0.44
C_0	-	85	-	15	-	SAH	11	12.3	0.74
C_1	-	60	-	15	25 s.a. $_3$	SAH	11	13.1	0.76
C_2	-	60	-	15	25 SiO_2	SAH	11	15.8	0.68
C_3	-	60	-	15	25 $CaCO_3$	SAH	11	12.8	0.74

Tableau 4 . Analyse chimique des additifs et de quelques aliments composés pour escargots (ppm) (s.a sable argileux).

Elements ppm	s.a.$_1$	s.a.$_2$	tourbe pour porcelets	B_0	B_1	B_2	A_0	A_1
Na	100	200	300	6000	6000	6000	6000	5500
K	1000	1000	100	12300	9600	11400	12100	11200
Ca	6400	6300	2500	88000	75000	80000	85000	86000
Mg	2360	1080	3920	5440	3360	3160	2920	7040
Cu	69	88	70	76	96	85	95	73
Mn	448	554	83	206	404	203	102	126
Zn	526	476	296	304	336	378	130	270
Fe	760	758	107	2686	4048	2850	3550	1448

Tableau 5. Analyse de texture des additifs sable argileux 1 et 2 (M.O. : matière organique).

Fraction en µm	Sable argileux$_1$	Sable argileux$_2$
>2000	7.4	11.4
2000-1000	0.1	-
1000-500	1.9	1.0
500-200	14.9	13.0
200-100	35.5	34.3
100-50	20.6	21.2
50-2	14.4	13.7
<2	5.2	5.4
M.O.	8.6	7.7

L'additif pour fabriquer les mélanges A_1, B_1, B_2 et C_1 est un sable argileux (s.a.$_1$) dont l'analyse chimique se trouve dans la Tableau 4 Ce sable a été tamisé sur un tamis de 1 mm dans les mélanges B_1 et B_2 (s.a $_2$ Tableau 3) et sur un tamis de 250 µm dans le mélange C_1 (s.a.$_3$: Tableau 3). La SiO_2 utilisé dans le mélange C_2 a aussi été tamisé sur un tamis de 250 µm et la tourbe des mélanges B_3 et B_4 sur un tamis de 500 µm. Cette tourbe est vendue comme tourbe pour porcelets '.

Les analyses de texture se trouvent dans le Tableau 5.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

Croissance

Expérience 1

Sur substrat artificiel l'aliment composé A_1 (Tableau 3) donne une croissance supérieure à l'aliment composé de référence A_0, (Fig. 1). Les différences sont significatives ($P < 0.01$). La croissance est moins bonne quand les escargots sont nourris avec l'aliment de référence sur substrat artificiel (A_0) que s'ils sont nourris avec le même aliment de référence mais sur substrat de sable argileux (A_2). Par contre, la dernière situation est moins bonne que le mélange A_1 (Fig. 1).

L'aliment composé A est un exemple parmis les huit mélanges étudiés et comparés par Defloor (1991) · chaque mélange avec 5 ou 10% d'additif améliorait la croissance à une exception près où la fraction de 200 à 500 µm était trop élevée (87,3%). Les meilleurs résultats sont obtenus avec une terre dont environ 50% de la fraction est entre 50 et 200 µm et 15% entre 200 à 500 µm.

Comme la croissance est favorisée en mélangeant un aliment complet pour escargots avec 10% de sable argileux, aussi bien dans une situation hors sol que dans un engraissement sur terre, il est donc conseillé de le faire.

La courbe de croissance sigmoide est obtenue dans la première expérience et non dans les deux autres, parce que dans le premier cas l'expérience a été poursuivie jusqu'au moment où un nombre d'escargots était bordé à l'âge de treize semaines.

Les premières semaines de l'expérience, les différences de croissance obtenues selon les différents mélanges utilisés, n'étaient pas significatives

Expérience 2·

Chaque aliment complet, mélangé à un additif à 10% donnait une amélioration de la croissance en comparaison à l'aliment de référence B_0 (Fig 2). Bien que les différences ne soient pas significatives, ces résultats prouvent qu'en mélangeant de la terre ou de la tourbe avec un aliment complet pour escargots, la croissance n'est pas influencée négativement avec ce mélange. Dans l'exemple de tourbe (B_3 et B_4) ce sont les fibres et non les granules qui sont responsables de cet effet. Les deux exemples donnés (terre et tourbe) sont deux des cinq mélanges (quatre types de terre et une tourbe) étudiés et comparés dans un deuxième essai par Defloor (1991) et qui ont donnés chaque fois des résultats identiques, c'est à dire une amélioration de la croissance en utilisant les mélanges.

Comme les mélanges avec les substrats stérilisés ne provoquent pas une croissance différente des substrats non stérilisés, l'amélioration de croissance qui résulte d'un mélange n'est pas due à des facteurs microbiologiques du sol et confirme les observations de Albuquerque (1990)

Expérience 3

Comme dans les deux expériences précédentes, on constate de nouveau une amélioration nette de la croissance des escargots nourris avec l aliment composé mélangé à un additif (C_1, C_2, C_3 et comparé aux escargots nourris à l'aliment composé sans substrat (C_0) (Tableau 3, Fig. 3). Dans cette expérience 3, l'aliment de base a été dilué à 25% de sable argileux, à 25% de sable blanc (SiO_2) ou à 25% de $CaCO_3$ en poudre Il n y a pas de différence significative entre les différents aliments, excepté pour 25% de SiO_2. Le fait que l'aliment C_1 donne une amélioration de croissance bien que l'aliment de base contienne déjà un surplus de $CaCO_3$ (25%) et qu à ceci on ajoute encore 25% de $CaCO_3$, est remarquable.

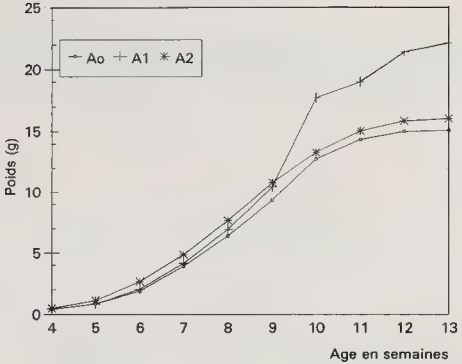


Figure 1 Courbes de croissance d'escargots (*Helix aspersa maxima*, Gros gris) nourris avec les mélanges A_0 et A_1 sur substrat artificiel humide (courbes A_0 et A_1) et avec le mélange sur substrat de terre (courbe A_2) (Deux répétitions de dix escargots dans des boîtes en plastique transparentes de 5 x 20 x 15 cm).

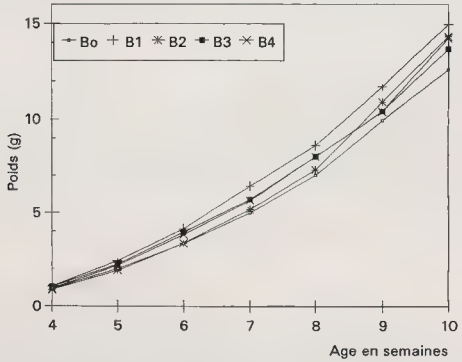


Figure 2. Courbes de croissance d'escargots (*Helix aspersa maxima*, Gros gris) nourris avec les aliments de croissance B_0 à B_4 (voir tableaux) (trois répétitions de 10 escargots dans des boîtes en plastique transparentes (5 x 20 x 15 cm) sur substrat artificiel humide.

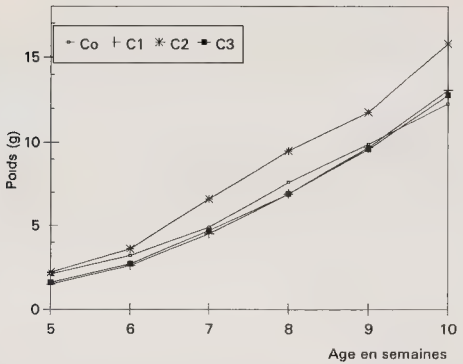


Figure 3. Courbes de croissance d escargots (*Helix aspersa maxima*, Gros gris) nourris avec les aliments de croissance C_0 à C_3 (voir tableau 3) (trois répétitions de 10 escargots dans des boîtes en plastique transparentes (5 x 20 x 15 cm) sur substrat artificiel humide).

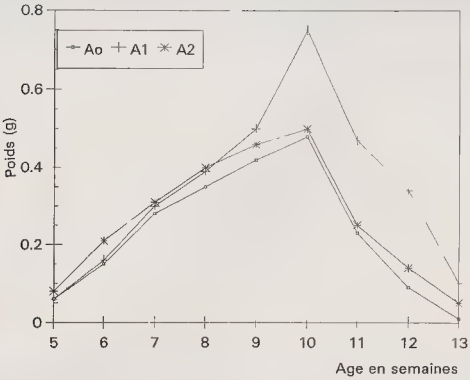


Figure 4 Croissance journalière par semaine d'âge d'escargots (*Helix aspersa maxima* Gros gris) nourris avec les aliments de croissance A_0 à A_1 (voir tableaux) (deux répétitions de 10 escargots dans des boîtes en plastique transparentes (5 x 20 x 15 cm) sur substrat artificiel humide (courbe A_0 et A_1) ou sur terre (courbe A_2)

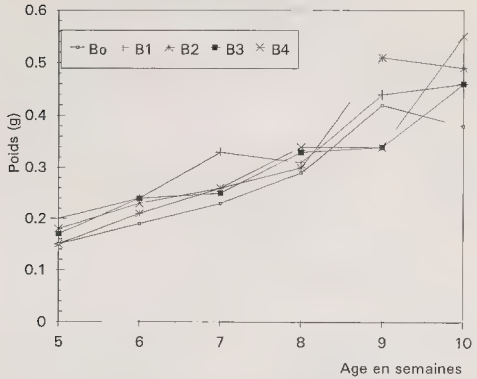


Figure 5. Croissance journalière par semaine d'âge d'escargots (*Helix aspersa maxima* Gros gris) nourris avec les aliments de croissance B_0 à B_1 (voir tableau 3) (trois répétitions de 10 escargots dans des boîtes en plastique transparentes (5x20x15 cm) sur substrat artificiel humide).

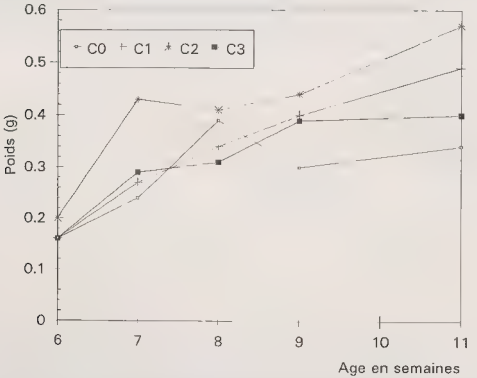


Figure 6. Croissance journalière par semaine d'âge d'escargots (*Helix aspersa maxima* Gros gris) nourris avec les aliments de croissance C_0 à C_3 (trois répétitions de 10 escargots dans des boîtes en plastique transparentes (5 x 20 x15 cm) sur substrat artificiel humide).

Les trois aliments discutés sont en fait trois des huit mélanges étudiés par Vercauteren (1992) et qui ont été comparés à l'aliment de référence C_0, donnant tous une amélioration de la croissance en comparaison à l'aliment de référence C_0.

Croissance journalière

Les différences entre la croissance des escargots selon les aliments deviennent visibles à partir de la cinquième semaine. La croissance journalière augmente jusqu'à la dixième et onzième semaine pour atteindre jusqu'à 0.75 g. Après dix à onze semaines, la croissance journalière diminue. Ceci est nettement plus visible dans la première expérience (Fig. 4) que dans les deux autres (Fig. 5 et 6) parce que la durée des observations est plus longue.

Indice de consommation

Les indices de consommation obtenus (Tableau 3) dans la première expérience sont trop élevés. Ceci est uniquement dû au fait que la quantité d'aliment donnée aux escargots était chaque fois trop élevée et donc pas mangée. Le surplus était perdu pendant les nettoyages des boîtes, trois fois par semaine. Il faut donc plutôt se référer aux indices de consommation des expériences B et C qui répondent plus à la réalité parce que dans ces deux cas, la quantité d'aliment donnée était telle qu'elle était entièrement consommée avant le nettoyage.

Actuellement, des indices de consommation de 0.5 sont répétitivement réalisables.

CONCLUSION

Dans trois expériences il a été démontré qu'une dilution d'un aliment complet pour escargots avec une matière organique comme de la tourbe ou avec du sable ou de la craie en poudre, ne diminue pas la croissance des escargots en élevage hors sol ou sur terre. Le sable blanc (SiO_2) (fraction < 250 µm) mélangé à 25% avec l'aliment complet pour escargots est préféré vu l'homogénité et la propreté du produit. La stérilisation des substrats ne donne pas de différences.

A l'âge de trois mois, les escargots Gros gris pèsent de 13 à 22 g. L'indice de consommation est en moyenne 0,5. Il est donc possible d'obtenir en trois mois des escargots Gros gris de 15 g ± x, dans un élevage hors sol, avec 7,5 g d'aliment composé pour escargots mélangé à 25% de SiO_2. La plus grande croissance journalière (0,7 g par jour) est obtenue pendant la dixième à la onzième semaine.

Des résultats identiques ont été obtenus avec *Achatina fulica* et *Archachatina marginata* dans un élevage hors sol (Verschuren, 1991).

REMERCIEMENTS

Cette étude a été partiellement financié par l'Association Hélicicole Belge. Les locaux ont été mis à notre disposition par le Département de Protection des Cultures (Université de Gand). Les composants des aliments de base, les praemix et des conseils utiles ont été fournis gratuitement par J. Van Rostenberge de la firme Van Rostenberge (actuellement firme Vandeven), Deinzestraat 25, B-9800 Nazareth, ir. E. Maene de la firme N V Radar (Dorpstraat 4, B-9800 Deinze) et ir. J Blanchaert de la firme N.V Eurovit (Actuellement N.V. Vitamex), Boomebos 5, B-9031 Drongen Les analyses ont été faites dans différents Départements de la Faculté de Sciences Agronomiques et Biologie Appliquée et au Centre de Recherches Agronomiques de l'Etat pour Alimentation Animale à Merelbeke avec l'aimable collaboration de Dr. B. Cottyn, Prof D Demeyer, Prof. M. Verloo et Dr. J. Van Hove. Mme. B. De Vos a tapé le manuscript.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Albuquerque de Matos R.M. 1990. Genetic and adaptive characterists in *Helix aspersa* of direct interest in snail farming. *Snail Farming Research*, 3: 36-43.

Crowell H.H. 1973. Laboratory study of calcium requirements of the brown garden snail, *Helix aspersa* Muller. *Proceedings of the Malacological Society of London*, 40: 491-501.

De Craemer D & De Grisse A. 1987 Eileg, ontluiking en vetmesting van de consumptieslak *Helix aspersa* (Müller). *Mededelingen Fakulteit Landbouw, R.U.G.*, **52**(1): 49-64.

Defloor J. 1991. *Vetmesting van de escargot* Helix aspersa maxima · *invloed van de bijmenging van grond in het voeder*. Thèse de fin d'études, Fakulteit Landbouw-wetenschappen, R.U.G. : 100 p.

De Grisse A 1990a Kweekdozen voor infantielen van de consumptieslak *Helix aspersa* Muller *Mededelingen Fakulteit Landbouw, R.U.G.*, **55**(1): 47-55.

De Grisse A 1990b Voederproeven met consumptieslak *Helix aspersa* Müller (Petit-gris). *Mededelingen Fakulteit Landbouw, R.U.G.*, **55**(1): 59-71.

De Grisse A. 1990c. Voederproeven met consumptieslak *Helix aspersa* Muller (Petit-gris en Gros-gris). *Mededelingen Fakulteit Landbouw, R.U.G.*, **55**(1): 73-82.

Gomot A. 1994. *Contribution à l'étude de la croissance d'escargots du genre* Helix *: Influence de facteurs de l'environnement. Nutrition et composition biochimique. Controle Neuro endocrine*. Thèse de Doctorat - Université de Franche-Comté.

Gomot A., Bruckert S., Gomot L. & Combe J.C 1986. A contribution to the study of the beneficial effects of soil on the growth of *Helix aspersa*. *Snail Farming Research*, **1**: 76-83.

Gomot A., Gomot L., Boukraa S. & Bruckert S. 1989. Influence of soil on the growth of the land snail *Helix aspersa*. An experimental study of the absorption route for the stimulating factors. *Journal of Molluscan Studies*, **55**: 1-7.

Gomot L , Enee J & Laurent, J. 1982. Influence de la photopériode sur la croissance pondérale de l Escargot *Helix aspersa* Muller en milieu controlé. *Comptes Rendus des Séances de l'Académie des Sciences*, **294**: 749-752.

Jess S. & Marks R.J. 1989. The interaction of diet and substrate on the growth of *Helix aspersa* (Müller) var. *maxima*. *Slugs and Snails in World Agriculture - Proceedings of a Symposium*, **41**: 311-317.

Newell P.F., 1967. *Mollusca*. In: Soil Biology (Burges A. & Raw F., eds) : 413-433.

Vercauteren F. 1992. *Bijdrage tot de kweek van* Helix aspersa *en de produktie vanescargotkaviaar*. Thèse de fin d études, Fakulteit Landbouwwetenschappen, R.U.G., 119 p.

Verschuren B 1991 *Bijdrage tot de moderne kweek van consumptieslakken . tropische agaatslakken* Achatina fulica *en* Archachatina marginata *en de escargot* Helix aspersa. Thèse de fin d'études, Fakulteit Landbouwwetenschappen, R.U.G., 89 p.

Mating strategies in the freshwater hermaphrodite snail *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818) (Gastropoda: Pulmonata)

Jacqueline A. TRIGWELL [1], *Georges B. J. DUSSART* [1] *and Marc VIANEY-LIAUD* [2]

RÉSUMÉ

Stratégies d'accouplement chez l'escargot hermaphrodite d'eau douce *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818) (Gastropoda: Pulmonata)

Biomphalaria glabrata, un hôte intermédiaire dans le cycle de *Schistosoma*, est capable de s'autoféconder quand il est isolé, mais préfère s'accoupler lorsqu'il se trouve en présence d'un partenaire. Dans ce cas, *B. glabrata* montre une série de stratégies d'accouplement qui reflètent, dans notre interprétation, le conflit sexuel résultant de l'échange de sperme de la part d'un hermaphrodite simultané. Une copulation simultanée réciproque a été observée dans 5 pour cent de 600 cas, mais cette observation ne garantit pas qu'il y a bien eu fécondation croisée.

ABSTRACT

Biomphalaria glabrata, an intermediate host in the life-cycle of *Schistosoma*, is able to self-fertilize when isolated but when paired, will preferentially outcross. When maintained in pairs, *B. glabrata* appears to employ a range of different mating strategies which, we hypothesize, reflect the sexual conflict it might experience as a sperm-trading simultaneous hermaphrodite. Simultaneous reciprocal copulation was observed in 5 per cent of 600 copulations, though this observation does not guarantee that a cross fertilization took place.

INTRODUCTION

Biomphalaria glabrata, a simultaneously hermaphrodite pulmonate freshwater snail, is well studied from the morphological and physiological aspect because of its importance as an intermediate host of *Schistosoma*. However little work has been done to elucidate its sexual behaviour.

If kept in isolation *B. glabrata* will reproduce by self-fertilisation but when paired or kept in a colony it will preferentially outcross (Brumpt, 1941; Paraense, 1955, 1993; Vianey-Liaud, Dupouy, Lancastre and Nassi, 1987 and 1991; Vianey-Liaud, Nassi, Lancastre & Dupouy, 1989). In common with other Pulmonate species such as *Stagnicola elodes* (Rudolph, 1979a), *Bulinus globosus* (Kuma, 1975; Rudolph, 1979b), *Lymnaea stagnalis* (Barraud, 1957; Van Duivenboden & Ter Maat, 1985; Noland & Carriker, 1946), *Lymnaea truncatula* (Smith, 1981) and *Physa gyrina* (Duncan, 1959), the

[1] Ecology Research Group, Canterbury Christ Church College, North Holmes Road, Canterbury, Kent, CT1 1QU, England.

[2] Laboratoire de Génétique et Environnement, Institute des Sciences de l'Evolution, UMR-CNRS 5554, Université Montpellier II, Place Eugène Bataillon, F-34095 Montpellier Cedex 05, France

decision to copulate is made by the male-acting *B. glabrata* (Trigwell, Dussart and Vianey-Liaud, 1997). In each case the male actor pursues and mounts the female actor. Bateman's principle (1948) states that a female's fecundity is limited by the resources available for egg production, whilst a male's fitness is limited by its accessibility to females and, because of this, males are more keen to fertilise than females are to be fertilised. Fisher (1958) proposed that if there are benefits to be gained from copulating in a particular sexual role, then simultaneous hermaphrodites must be subject to sexual conflict. Charnov (1979) has suggested that there is a conflict of interest between copulating pairs of simultaneous hermaphrodites, with each partner accepting sperm in order to donate sperm, and Leonard (1991a) expanded this further by saying that sexual conflict should lead to a preference for copulating in a particular sexual role and this conflict should affect both partners involved in a copulation. In the Hermaphrodite's Dilemma model, Leonard (1990) predicts that in hermaphrodites, the most effective mating system will be one that is based on reciprocal copulations, with occasional episodes of non-reciprocation, in which one animal cheats by taking only the preferred role.

Leonard & Lukowiak (1984, 1985, 1991a, 1991b) propose that the mating system of simultaneous hermaphrodites is based on the trading of gametes, either eggs or sperm. If an organism is an egg trader, it copulates in the female role during the first copulation so that it may have the opportunity to copulate in the preferred male role during a reciprocal copulation and fertilise its partners eggs, *i.e.* it gives up eggs (trades eggs) in order to fertilise. Conversely, if an organism is a sperm trader, it copulates in the male role during the first copulation in order to act in the preferred female role during a reciprocal copulation, and receive sperm with which to fertilise its own eggs; *i.e.* it gives up sperm (trades sperm) in order to be fertilised.

The behaviour exhibited by *B. glabrata* preceding and during a copulation has been described in detail by the authors elsewhere (Trigwell *et al*, 1997). The present paper aims to further elucidate their sexual behaviour by describing the different mating strategies of *B. glabrata*, and by endeavouring to explain this behaviour in the context of current ideas on evolutionary strategies of sexual behaviour patterns.

MATERIALS AND METHODS

The snails used in this work were laboratory Brazilian *B. glabrata* obtained from Vianey-Liaud in 1994, who had laboratory bred them for the previous six years. Experiments were conducted using homozygous dominant pigmented (CC) and homozygous recessive albino (cc) snails which were kept in a 12 hour light, 12 hour dark regime at 25°C ± 2°C and fed copious quantities of lettuce.

Sexually mature *B. glabrata* that had been isolated from two weeks after hatching, were paired in transparent plastic boxes containing 65ml of conditioned pond water. Various experiments were conducted, which involved pairing snails, monitoring and recording each stage of their behaviour, either from pairing through to the end of a reciprocal copulation (if it occurred), or through several hours of reciprocal copulations. The snails were then separated. Although the main results of these experiments will be reported elsewhere, copulations in a total of more than 600 pairs of snails were observed and specific behaviour patterns were noted.

RESULTS

From the observations described above, *B. glabrata* appears to employ six mating strategies. These have been choreographed in Figure 1.

Fig. 1a. The male actor (A) mounts the female actor (B), everts its penis and a copulation takes place. Afterwards the male actor, *without prompting or inducement by the female actor*, retracts its penis but, instead of moving away, the female actor reciprocates by taking the male role. It mounts what is now the female actor, everts its penis and achieves intromission. When the successively

reciprocal copulation has finished, the male actor retracts its penis, dismounts, and the snails separate.

Fig. 1b After the male actor (A) has mounted the female actor (B), everted its penis, achieved intromission and completed a copulation, the female actor changes role to become the male actor and everts its penis. *At the same time*, the first male actor then retracts its penis and assumes the female role. The first female actor takes the male role and a successively reciprocal copulation takes place.

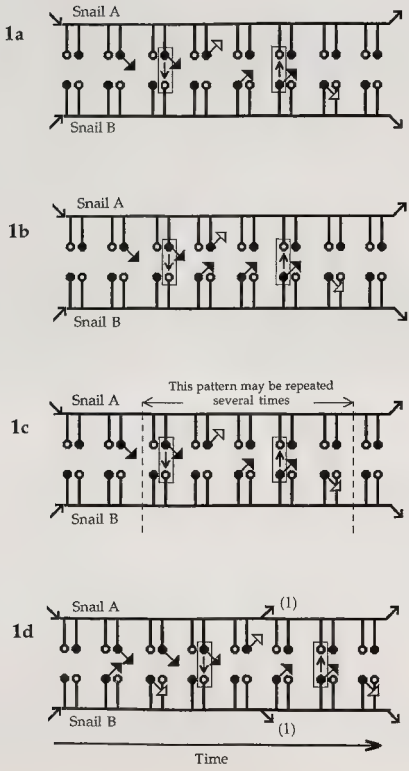
Fig. 1c More than one successively reciprocal copulation occurs, with the two snails alternating in the male and female roles. In each instance the penis of the male actor is retracted before role-changing takes place. Finally the copulations cease and both snails move away.

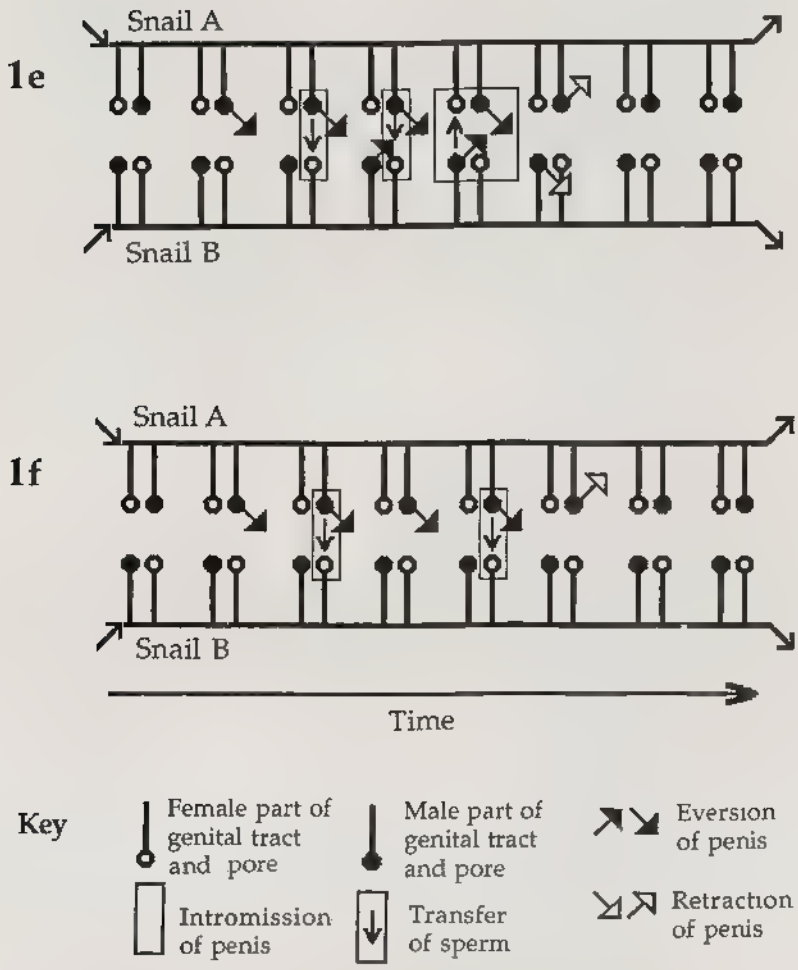
Fig. 1d. Although one snail mounts the other, both snails evert their penes and attempt intromission. However the snail that has been mounted (B) retracts its penis and assumes the female role whilst the other continues in the male role After copulating in these roles, the male actor retracts its penis and the snails either separate and move away (1), or a successively reciprocal copulation, in which each snail assumes the opposite role, takes place.

Fig 1e. Here, there is a simultaneously reciprocal copulation, in which both snails take the male and female roles at the same time One snail mounts the other, everts its penis and intromission is achieved whilst the apertures of both snails are opposing, *i.e.* the two snails have the left-hand side of their shells facing each other. The female actor then moves its foot until it has a hold on the shell of the male actor. At this point in time, they are effectively embracing each other by clasping the shell of the partner, each with its foot just above the aperture of the other snail (Fig. 2). The female actor now takes the male role whilst still acting as a female, and everts its penis. The position of the two snails enables the female/male actor to insert its penis into the female genital pore of the original male actor. Once the copulation has finished, the snails separate and move away.

Fig 1f. The snail taking the male role (A) mounts the female actor and everts its penis; there are then several attempts at, or actual events of, intromission. When the copulation is complete, the male actor retracts its penis However, instead of taking the male role in a reciprocal copulation, the female actor (B) moves away and may be unsuccessfully pursued by the male actor; *there is no reciprocation*.

During our observation of 600 isolated pairs, 63 per cent of snails copulated *continuously* in alternate sexual roles, the rest copulated for 25-50 per cent of the time but did not always engage in reciprocal copulations. When paired, the snail taking the male role usually pursued and mounted the female actor, who initially appeared to try and avoid the copulation in one (or more) of three ways, (1) by moving away prior to the male actor mounting its shell, (2) by shell swinging after the male actor has mounted its shell and (3) by withdrawing into its shell as the male actor attempts intromission. It should be noted that there can be several episodes of penis eversion and attempted intromissions by the male actor before a successful intromission occurs In 75 per cent of pairings, once a successful copulation has been completed, the female actor reciprocated by taking the male role in a successive copulation In 20 per cent of pairings the female actor accept the intromission and then, instead of reciprocating by taking the male role, terminated the copulation by moving away (Fig 1f) In 5 per cent of pairings, a female actor everted its penis and achieved an intromission whilst the male actor was still intromitted In this way a simultaneously reciprocal copulation, where both snails take the male and female roles at the same time, occurred , however, it is not yet possible to confirm that exchange of sperm also occurred So far as we are aware, simultaneous reciprocal copulation *in B glabrata* has not been reported elsewhere in the literature The possible copulatory patterns are summarised in Fig 3 We suggest that these mating patterns represent the sexual conflict *B glabrata* might experience as a simultaneous hermaphrodite.


1a
Snail A
Snail B
1b
Snail A
Snail B
1c
This pattern may be repeated
several times
Snail A
Snail B
1d
Snail A
(1)
Snail B
(1)
Time



Figures 1, a - f. Choreography of the six strategies *B. glabrata* appears to employ when paired with another conspecific.

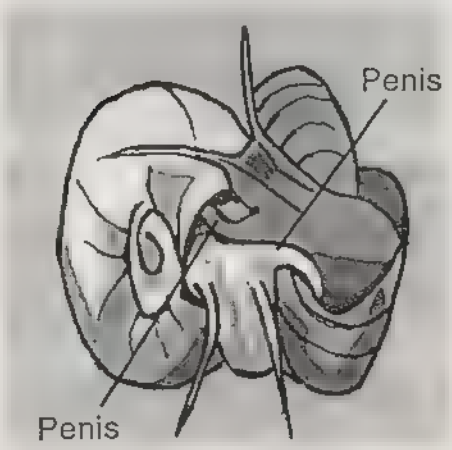


Figure 2. *B. glabrata* during a simultaneous reciprocal copulation

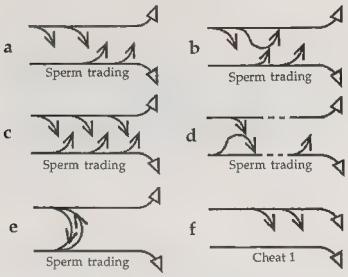


Figure 3. Summary diagram of the six strategies.

DISCUSSION

We hypothesise that five of the mating strategies exhibited by *B. glabrata* are sperm trading strategies, and that the sixth equates with cheating on the part of the female actor (Leonard & Lukowiak 1984, 1985, 1990, 1991a, 1991b).

After the initial unilateral copulation, if the female actor does not show an immediate willingness to take the male role, the male actor continues to evert its penis and attempt intromission. By intromitting more than once, the male actor might be trying to stimulate the female actor into taking the male role in a reciprocal copulation. It is also possible that the male actor does not pass enough sperm during one intromission, or that the female actor can digest all, rather than part, of the volume of sperm passed in one ejaculate (Kitajima and Paraense, 1983; Rogers and Reeder, 1987), particularly as experiments conducted in our laboratory have shown that one copulation leads to a cross-fertilisation in only fifty percent of pairings.

When snails are paired, a copulation does not always immediately follow. Sometimes a pair meet, the male actor mounts its partner and partially everts its penis before it is in the copulatory position; it then retracts its penis, dismounts and move away. This may happen two or three times before an encounter results in a full copulation. The reason for this behaviour is unclear. Van Duivenboden and Ter Maat (1985) found that when sexually active *Lymnaea stagnalis* are isolated for varying periods of time and then paired again, the snails that have been isolated the longest take the male role in the ensuing copulation. Lorenz (1950) devised a 'psycho-hydraulic' model of behaviour which states that increasing deprivation promotes increased motivation, but once the deprivation ceases so does the motivation, and exhaustion follows. This model succinctly describes the sexual behaviour of *L. stagnalis*. With lengthening periods of sexual deprivation, there is an increasing desire to act in the male role, once this desire has been satiated, the desire is exhausted and the snail will take the female role in a subsequent copulation. On the evidence of *L. stagnalis*, and from Lorenz's model of behaviour, one might expect the majority of sexually mature virgin *B glabrata* to take the male role but this does not appear to happen.

Because hermaphrodites are able to copulate in both the male and female role, Leonard & Lukowiak (1991b) propose that all animals in the species should be subject to sexual conflict. As such, if there is a preferred role, they should all want to take this role during a copulation (Leonard 1990). Leonard & Lukowiak (1984) also suggest that in hermaphrodites, a copulation is

initiated by an animal adopting the sexual role that reflects whether it is an egg or a sperm trader. If it is an egg trader, then the female-actor will decide that a copulation is to take place; if, however, it is a sperm trader, the decision appears to be made by the male actor. In *B. glabrata* the decision to copulate appears to be made by the male actor; consequently we suggest it is a sperm trader and that its mating strategies reflect this. The only strategy that might make us think otherwise is illustrated in Fig. 1f. However, when this strategy is evaluated in the context of the other five, the female actor's refusal to adopt the male role in a reciprocal copulation appears to indicate a strategy of non co-operation (or cheating). It is possible that the benefits obtained by cheating outweigh the cost of reciprocating, *i.e.* in some circumstances it might be more cost-effective to act only in the female role during a copulation rather than to take the male role during a reciprocal copulation. If a snail had previously acted in the male role and depleted its sperm stores, it might not be able to take the male role again because in doing so, the energy cost involved would not be balanced by the benefit of paternity. Paternity, however, is never guaranteed because the female actor appears to be able to determine which sperm fertilises its eggs (Vianey-Liaud, 1995). This hypothesis would probably not be applicable to sexually mature virgin snails which were paired for the first time, but it might be applicable if sexually active animals were used.

Vernon and Taylor (1996) looked at the sexual roles adopted by *B. glabrata* kept in groups. They conclude that there is no evidence to suggest that snails kept in this way are subjected to sexual conflict, and that the hermaphrodite's dilemma only applies to snails in isolated pairs, where reciprocation might be 'the best of a bad job' strategy. In our isolated pair experiments, we might therefore expect the majority of snails to engage in reciprocal copulations only as many times as it takes to fertilise the eggs of the partner or to get fertilized. Thus, we might expect only a *minority* of pairs to copulate continuously. Our results however, show the opposite, since most pairs copulated relatively continuously. It is possible that our isolated pairs copulate in ways which relate to (1) genetic distance between partners (2) behavioural drive to copulate, (3) chance, or some as yet undefined factor. Consequently, it is difficult to see how a 'best of a bad job' strategy could apply to our observations.

When copulating, simultaneous hermaphrodites have a choice; either they can co-operate and reciprocate, *i.e.* act in both the preferred and non-preferred roles, or they can take the preferred role and not reciprocate, *i.e.* cheat. Leonard suggests that the best mating strategy for simultaneous hermaphrodites is a reciprocal one with only a few episodes of cheating in the preferred role. When cheating occurs, the male actor initiates a copulation and donates sperm to the female actor but the female actor declines to reciprocate. The male actor has thus been able to spread its genes by gaining access to another conspecific's eggs; however, because the female may be able to determine whether it uses that donated sperm, paternity is not guaranteed. Also, unless the male actor has access to another snail that is willing to take the male role during a copulation, it will be forced to reproduce by self-fertilization and, although it is advantageous to be able to do this when there are no other snails to partner, it might not be genetically beneficial.

CONCLUSION

An individual of *B. glabrata* appears to use one of six strategies when mating. Five of these strategies indicate that the snails co-operate by acting in the opposite sexual role during a reciprocal copulation, and the sixth appears to represent non co-operation on the part of the female actor. On the basis of our observations, we suggest that *B. glabrata* is a sperm trader.

REFERENCES

Barraud E. M. 1957. The copulatory behaviour of the freshwater snail (*Lymnaea stagnalis* L.). *British Journal of Animal Behaviour*, 5(2): 55-59.

Bateman A. J. 1948. Intra-sexual selection in *Drosophila*. *Heredity*, 2: 349-368.

Brumpt E. 1941. Observations biologiques diverses concernant *Planorbis (Australorbis) glabratu* hôte intermédiaire de *Schistosoma mansoni*. *Annales de Parasitologie*, 18: 9-45.

Charnov E. L. 1979. Simultaneous hermaphroditism and sexual selection. *Proceedings of the National Academy of Sciences, U.S.A.*, **76**: 2480-2484.

Duncan C. J. 1959. The life cycle and ecology of the freshwater snail *Physa fontinalis* (L.). *Journal of Animal Ecology*, **28**: 97-117.

Fisher R A. 1958. *The genetical theory of natural selection*. Dover Publications, Inc. New York.

Kitajima E. & Paraense W. L.; 1983. The ultrastructure of the spermatheca of *B. glabrata* (Gastropoda: Pulmonata). *Journal of Morphology*, **176**: 211- 220.

Kuma E. 1975. Studies on the behaviour of *Bulinus (Physopsis) globosus* (Morelet). *Zoologischer Anzeiger*, **194**: S. 6-12.

Leonard J.L. 1990. The Hermaphrodite's Dilemma *Journal of Theoretical Biology*, **147**: 361-372.

Leonard J L. & Lukowiak K. 1984. Male-female conflict in a simultaneous hermaphrodite resolved by sperm trading. *American Naturalist*, **124**: 282-286.

Leonard J.L. & Lukowiak K. 1985. Courtship, copulation, and sperm trading in the sea slug, *Navanax inermis* (Opisthobranchia: Cephalaspidea). *Canadian Journal of Zoology*, **63**: 2719-2729.

Leonard J.L. & Lukowiak K. 1991a. Sex and the simultaneous hermaphrodite: testing models of male-female conflict in a sea slug, *Navanax inermis* (Opisthobranchia). *Animal Behaviour*, **41**: 255-266.

Leonard J.L. & Lukowiak K. 1991b. Sexual conflict and the mating systems of simultaneously hermaphroditic gastropods. *American Malacological Bulletin*, **9**(1): 45-58.

Lorenz K. Z. 1950. The comparative method in studying innate behaviour patterns. *Symposia. Society for Experimental Biology*, **4**: 221-268.

Noland L. E. & Carriker M. R. 1946. Observations on the biology of the snail *Lymnaea stagnalis appressa* during twenty generations in laboratory culture. *American Midland Naturalist*, **36**: 467-493.

Paraense W.L. 1955. Self and cross fertilization in *Australorbis glabratus*. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, **53**: 277-291.

Paraense W.L. 1993. Egg laying induced by insemination in *Biomphalaria* snails. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, **88**(4): 551-555.

Rogers S. H & Reeder R. L. 1987. Structure and function of the spermatheca in a snail host of schistosomiasis, *B. glabrata*. *Journal of Morphology*, **191**: 295-308.

Rudolph P.H. 1979a The strategy of copulation of *Stagnicola elodes* (Say) (Basommatophora: Lymnaeidae). *Malacologia*, **18**: 381-389.

Rudolph P.H. 1979b. Copulatory activity and sperm production in *Bulinus (Physopsis) globosus* (Gastropoda: Planorbidae). *Malacologia*, **19**(1): 147-155.

Smith G. 1981. Copulation and oviposition in *Lymnaea truncatula* (Müller). *Journal of Molluscan Studies*, **47**: 108-111.

Trigwell J.A., Dussart G B J. & Vianey-Liaud M. 1997. Pre-copulatory behaviour of the freshwater hermaphroditic snail *Biomphalaria glabrata* (Say 1818) (Gastropoda: Pulmonata). *Journal of Molluscan Studies*, **63**(1): 116-120.

Van Duivenboden Y. A. & Ter Maat A. 1985. Masculinity and receptivity in the hermaphrodite pond snail *Lymnaea stagnalis*. *Animal Behaviour*, **33**: 885-891.

Vernon J. G. & Taylor J, K. 1996. Patterns of sexual roles adopted by the schistosome-vector snail *Biomphalaria glabrata* (Planorbidae). *Journal of Molluscan Studies*, **62**: 235-241.

Vianey-Liaud M. 1995. Bias in the production of heterozygote pigmented embryos from successively mated *Biomphalaria glabrata* (Gastropoda: Planorbidae) albino snails. *Malacological Review*, **28**: 1-10.

Vianey-Liaud M., Dupouy J., Lancastre F. & Nassi H. 1987. Genetical exchanges between one *B. glabrata* (Gastropoda: Planorbidae) and a varying number of partners. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, **82**: 457-460.

Vianey-Liaud M., Nassi H., Lancastre F. & Dupouy J. 1989. Duration of pairing and use of allosperm in *B. glabrata*. (Gastropoda: Planorbidae). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, **84**: 41-45.

Vianey-Liaud M., Dupouy J., Lancastre F. & Nassi H. 1991. Constant use of allosperm by female-acting snails after successive cross fertilizations in *B glabrata* (Gastropoda: Planorbidae). *Malacological Review*, **24**: 73-78.

Haliotis 26: 33-49 (1997) Société Française de Malacologie

Le genre *Pseudamnicola* au Maroc avec description de *Pseudamnicola pallaryi* n. sp. (Gastropoda: Hydrobiidae)

Mohamed GHAMIZI [1], *Jean-Claude VALA* [2] *et Hassan BOUKA* [1]

ABSTRACT

In the family Hydrobiidae, 5 species of the genus *Pseudamnicola* are reported for the Moroccan continental waters. One of them, *P. dupotetiana* (Forbes), is widely distributed and its anatomy is described for the first time. Four species are restricted to the Middle Atlas: *P.* cf. *spirata* (Paladilhe) and *P.* cf *conovula* (Frauenfeld), cited for the first time in Morocco, *P. pallaryi* n.sp. and *P. leprevieri* (Pallary). A neotype of *P. dupotetiana*, deposited at the BMNH, is selected from a sample originating from Bougie (now Bejaia, Algeria).

RÉSUMÉ

Dans la famille des Hydrobiidae, 5 espèces du genre *Pseudamnicola* sont recensées dans les eaux continentales du Maroc. L'une d'elles, *P.dupotetiana* (Forbes), dont l'anatomie est nouvellement décrite, montre une large distribution. Quatre sont strictement localisées dans le Moyen Atlas. *P.* cf. *spirata* (Paladilhe) et *P.* cf *conovula* (Frauenfeld) qui sont mentionnées pour la première fois dans le pays ainsi que *P. pallaryi* n.sp. et *P. leprevieri* (Pallary). Un néotype de *P. dupotetiana*, est désigné à partir d'une série provenant de Bougie (aujourd'hui Bejaia, Algérie).

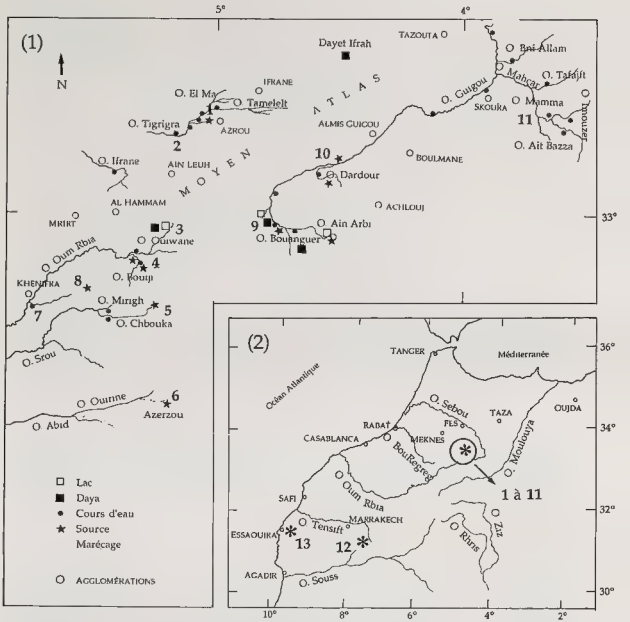
INTRODUCTION

Historiquement, chez les Hydrobiidae, Paulucci (1878) créa le genre *Pseudamnicola* pour distinguer les amnicoles d'Europe de celles rencontrées en Amérique. Cette proposition fût jadis contestée par Bourguignat (1887, p. 33) qui écrivait "... ce genre ne repose sur aucun caractère et n'a pas sa raison d'être ... pour la seule raison qu'étant européennes, ces amnicoles ne sont pas, comme de juste, américaines ..." Mais, la dénomination *Pseudamnicola* s'est néanmoins imposée et fût largement admise, en particulier par Pallary (1904), Adam (1960), Boeters (1971), Giusti et Pezzoli (1980). La diagnose de l'espèce type *Pseudamnicola lucensis* (Issel 1866, *Bythinia*) a été ultérieurement complétée par Boeters (1971) avec des caractères anatomiques.

Il s'avéra en effet que les seuls caractères des coquilles apparaissaient insuffisants pour établir avec certitude la diagnose des espèces. Ces descriptions uniquement conchyliologiques ont été ainsi à l'origine d'une grande confusion, amenant certains auteurs, notamment Bourguignat (1864) et Pallary (1898, 1904) à multiplier le nombre d'espèces alors que d'autres auteurs, dont Van Damme (1984) et

[1] Faculté des Sciences Semlalia, Laboratoire de Parasitologie, BP S 15, Marrakech, Maroc.

[2] Faculté des Sciences, 33 rue Louis Pasteur, 84 000 Avignon, France.



Figures 1-2: Localités de récolte des *Pseudamnicola* spp — 1 Stations prospectées dans le Moyen Atlas occidental. 2. Situation générale des localités à *Pseudamnicola* spp dans le Maroc au nord du Sahara.

Abbréviations utilisées dans le texte

GHA= Collection personnelle de M. Ghamizi,
M= mâle, F= femelle,
stat.= station de récolte,
MNHNP= Muséum National d'Histoire Naturelle de Paris,
ISR= Institut Scientifique de Rabat (ex Institut Scientifique Chérifien).

Kristensen (1985), étaient portés vers une synonymie réductionniste extrême en ne considérant qu'un polymorphisme de la seule *Pseudamnicola dupotetiana* (Forbes, 1838) dont certains morphes correspondraient parfois à *Mercuria similis* (Draparnaud 1805) d'après les commentaires récents de Ramdani *et al.* (1987). Aujourd'hui, suite à la distinction anatomique établie par Boeters (1971) pour séparer les deux genres *Mercuria* et *Pseudamnicola* la confusion n'est plus possible.

Dans la zone Sud-Ouest de la région paléarctique, sur la base d'une description anatomique bien détaillée, 13 vraies espèces de *Pseudamnicola* sont maintenant parfaitement décrites: 2 de Tunisie (Boeters, 1976), 6 de la péninsule Ibérique (Boeters, 1988), 3 d'Italie (Giusti & Pezzoli, 1980; Cossignani, 1995) et 5 du Maroc (ce travail). Néanmoins, aucune description anatomique n'est encore fournie pour certaines espèces du sud de la France d'où est originaire l'espèce type du genre *Mercuria, M. similis* (Draparnaud, 1805) (= *M. confusa* (Frauenfeld, 1863), sensu Boeters) dont les caractères anatomiques ont été donnés par Boeters (1971) et Giusti (1979). Par ailleurs, plusieurs espèces répondant à la diagnose de *Pseudamnicola* ont été décrites d'Algérie et nécéssitent actuellement une observation de l'animal complet afin de pouvoir statuer sur leur véritable appartenance générique. Dans ce but, nous avons disséqué quelques exemplaires conservés au Muséum de Paris (MNHNP), en particulier des topotypes de *Paludina dupotetiana* Forbes, 1838 dont la localité-type est en Algérie.

Concernant uniquement les Hydrobiidae de l'Afrique du Nord, les récents travaux sont très limités. La révision des 28 espèces de Tunisie réalisée par Boeters (1976) constitue inévitablement l'approche la plus complète pour cette zone géographique Dans sa clé des mollusques dulçaquicoles de l'Afrique, Brown (1980, p. 15, 58) exclut les Hydrobiidae de l'Afrique du Nord-Ouest en précisant seulement que plusieurs espèces ont été décrites du Maroc et d'Algérie appartenant particulièrement aux genres *Pseudamnicola* et *Mercuria*. En 1984, van Damme recommende la nécessité d'une révision de cette famille et indique la présence de 5 genres au Maroc, *Pseudamnicola, Mercuria, Heideella, Iglica* et *Hydrobia*. Par la suite, Kristensen (1985) sur la base des caractères des coquilles, y ajoute la présence de 3 nouveaux genres, *Hadziella, Horatia* et *Belgrandia*.

Pour le Maroc, jusqu'à ce présent travail, seule l'anatomie de deux espèces d'Hydrobiidae était disponible. *Mercuria similis* (= *M confusa* sensu Boeters) et *Hydrobia aponensis duveyrieri* (Bourguignat, 1864) (Backhuys & Boeters, 1974; Boeters, 1976). A partir du matériel du MNHNP et des récoltes que nous avons effectuées au Maroc, nous faisons la description détaillée de *Pseudamnicola dupotetiana* (Forbes) et de *P. lepreveri* (Pallary), signalons des formes comparables à *P. conovula* (Frauenfeld) et à *P. spirata* (Paladilhe) et décrivons une nouvelle espèce, *P. pallaryi* n.sp.

DIAGNOSE DES *PSEUDAMNICOLA* DU MAROC

La coquille des *Pseudamnicola* est généralement ovoïde avec une spire non convexe et un apex non aigu comme c'est le cas chez les *Hydrobia* et les *Mercuria*. La spire occupant moins de 15% de la hauteur totale (plus de 30% chez *Hydrobia*) n'est plus considérée actuellement comme un caractère générique valable comme l'avait adopté Boeters (1971) L'anatomie se caractérise par des cténidies ayant moins de 22 lamelles (à la différence des *Hydrobia* possédant plus de 22 lamelles); l'oviducte pigmenté en noir (à la différence des *Mercuria*); le pénis simple, sans ventouses (à la différence avec *Semisalsa*) et sans lobes ni expansion latérale (à la différence des *Bythinella, Hydrobia* et *Mercuria*). La femelle possède un seul receptacle séminal (à la différence de certaines formes de *Belgrandia*). Les spécimens que nous avons disséqués possèdent une bourse copulatrice en forme de sac, caractère qui permet de séparer le sous-genre *Pseudamnicola* (*Pseudamnicola*) du sous genre *Pseudamnicola* (*Corrosella*) dont la bourse copulatrice revêt une forme en J (Boeters,1988).

Même s'il semble souvent que la taille plus petite de la coquille, la spire moins aigue et l'enroulement nettement étagé permettent de reconnaitre les espèces de *Pseudamnicola*, l'observation anatomique des animaux est parfois nécessaire pour les distinguer des espèces de *Mercuria*. Ainsi, des formes de *Mercuria*, habitant la nappe phréatique des puits (Ghamizi, en cours d'étude) qui sont de petite taille, peuvent être facilement confondues avec des *Pseudamnicola*

Pseudamnicola (Pseudamnicola) dupotetiana (Forbes, 1838)

Référence originale: *Paludina dupotetiana* Forbes, 1838: 254; pl. 12, fig. 3.

Localité type: Alger et Bougie (= Bejaia), Algérie; ici restreinte à Bejaia.

Matériel type: néotype, ici désigné, sélectionné dans le lot provenant de Bougie (=Bejaia, Algérie); coll. Denis, MNHNP, et déposé au Natural History Museum, Londres.
Coquille (fig. 3-4) mesurant 1,7 x 1,45 mm, contenant l'animal séché à l'intérieur, et l'opercule. Forme ovoide, avec tours étagés et suture profonde; tours de la spire un peu encroûtés.

Autres références:
Hydrobia dupotetiana - Morelet, 1880: 62.
Amnicola dupotetiana - Pallary, 1898: 133.
Amnicola dupotetiana - Pallary, 1921: 94-97.
Pseudamnicola dupotetiana - Brown, 1980: 70; fig. 33.
Pseudamnicola dupotetiana - van Damme, 1984: 17; fig 19b.
Pseudamnicola dupotetiana - Kristensen, 1985: 7; fig. 7.
Mercuria similis - Ramdani *et al.*, 1987: 136

Matériel frais examiné: Ain Aghbal (stat. 1, fig. 1) 21-7-1991: 30 coquilles (GHA 131), 5 M (GHA 132), 5 F (GHA 133). Source Chbouka (stat 5) 15-6-1991 5 coquilles (GHA 141), 4 M (GHA 142) Sid Addi (stat. 2) 1991: 1 M (GHA 158). Aiyoune Oum Rbi (stat 4) 1991: 2 coquilles (GHA 161) Dayet Ahouli (stat 9) 15-6-1991. 3 coquilles (GHA 145). Oued Bazza (stat. 11) 18-6-1991: 3 coquilles et 1 M (GHA 147). El Heri (stat. 7) 27-6-1991. 2 coquilles (GHA 159).

Echantillons du MNHNP. "Champs de manoeuvre Alger": 8 coquilles, 3 M (GHA 221). "Bougie, Coll. M Brondel 1884": 5 coquilles. 1M et 1F (GHA 225). "Hôpital du Dey, Alger, *Amnicola dupotetiana*": 18 coquilles 'Bougie, Coll Denis 1945, *Paludina porata*" 20 coquilles, 2 M et 2 F (GHA 228). 'Boufarik 1869, sud Alger": 10 coquilles, 2 M (GHA 229). 'Sebdou, sud ouest Tlemcen, gastéropodes fluviatiles': 2 coquilles "Ain Hadjar (Essaouira, stat. 13, fig. 2) Coll. Staadt 1969, *Pseudamnicola maroccana* Morelet": 3 coquilles. "Oued Djenanmes, Moyen Atlas 12-6-1925 P. Rh. Dollfus Maroc": 3 coquilles. "Sidi Madani, piste de camp des chênes H. Gautier 2-5-1926". 5 coquilles, 2 M (GHA 230).

Echantillon de l'Institut Scientifique de Rabat (ISR): "Marrakech, 1929"

Description

A l'origine, *Paludina dupotetiana* était ainsi succintement décrite: "Testa minima, ovata conoidea, ventricosa perforata fusca, unfranctibus quinis teretebus, apertura ovata rotunda, spira obtusa. Long. 1/10", Lat. 1/12", animal noir, coquille encroutée d'argile, opercule corné et strié" (Forbes, 1838, page 254).

Coquille (fig. 3-7): petite taille, ovoide, apex obtus, tours étagés séparés par des sutures profondes, ouverture non détachée à bords continu tranchants et non évasés. Hauteur (SH) entre 2 et 2,3 mm; rapport Hauteur / Largeur (SH/SW) caractéristique variant entre 1,2 et 1,3; rapport déduit de la diagnose de Forbes (1838) égal à 1,2.

Mâle (fig. 20-28): Spécimens frais: extrémité du pénis souvent pointue avec des taches pigmentaires localisées, aspect très net chez les individus récoltés dans les sources Ain Aghbal (fig. 24) et Chbouka (fig. 28). Spécimens réhydratés d'Algérie: extrémité du pénis parfois tronquée (fig. 20) ou contractée avec un canal déférent très tortilloné (fig. 25), plus ou moins visible, pénètrant par le côté droit entre le fouet et la base, débouchant à l'extrémité du pénis, bord gauche ridé.

Femelle (fig. 34-35, 40): Oviducte rénal pigmenté rejoignant le canal ventral. Gonopore terminal. Glande capsuleuse et glande à albumine différenciables par la structure des tissus. Bourse copulatrice en forme de sac, non repliée, attachée par un long canal rejoignant le canal ventral. Receptacle séminal tubuleux avec extrémité en vésicule, départ situé près du point de rencontre du canal de la bourse copulatrice et du canal ventral. Longueur ne dépassant que légèrement la moitié de celle du canal de la bourse.

Remarque: Les dimensions des coquilles des différentes populations examinées sont regroupées dans le tableau 1 et permettent de constater une faible variabilité morphologique. Le rapport

hauteur/largeur, de 1,2 d'après les mensurations rapportées par Forbes (1838) rejoint les valeurs trouvées chez les spécimens récoltés au Maroc et des spécimens conservés au MNHNP provenant de localités algériennes proches de la localité-type. Les individus de la source Chbouka semblent être de grande taille mais n'atteignent jamais 3 mm comme le rapporte Bourguignat (1862, 1864). Cet auteur étudia vraissemblablement un échantillon comprenant en mélange des spécimens de *P dupotetiana* et de *Mercuria sp.*

Discussion

La localité-type de *P. dupotetiana* est décrite comme ruisseaux côtiers sur sol argileux, près d'Alger et de Bougie en Algérie. Les échantillons examinés au MNHNP répondent à la diagnose et à la figure de Forbes (1838). Nous avons réhydraté certains d'entre eux, après décalcification par une solution concentrée d'acide chlorhydrique, suivie d'un trempage sous vide de l'animal désséché. Néanmoins, seuls les caractères des mâles ont pu être observés sur ces spécimens réhydratés. Par la forme du pénis, simple, sans lobe, sans expansion latérale (figures 20-22, 25), les spécimens correspondent sans aucune ambiguité au genre *Pseudamnicola*. Ainsi, *Paludina dupotetiana* se présente comme l'espèce de *Pseudamnicola* la plus anciennement décrite du pourtour circum-méditérranéen, bien avant l'espèce type *P. lucensis* (Issel, 1866). Dans le but de stabiliser le nom *P dupotetiana* pour une espèce de *Pseudamnicola*, nous avons désigné comme néotype un de ces spécimens topotypiques du MNHNP. Le ou les spécimens étudiés par Forbes n'existent plus au Natural History Museum de Londres (D. Brown, comm. pers.); il ne nous a pas été possible d'obtenir une réponse de la part du conservateur du musée d'Edimburgh, ou se trouve également une partie du matériel de Forbes, mais une liste des types (Smaldon, Heppell & Watt, 1976) ne mentionne pas *Paludina dupotetiana*.

Les formes que nous avons ramenées des sources du Moyen Atlas marocain fournissent déjà une bonne diagnose des femelles. Cependant, il reste encore à obtenir des échantillons frais d'Algérie pour confronter les résultats.

La grande variabilité morphologique et la large distribution attribuées à *P dupotetiana*, aussi bien en Europe qu'en Afrique du Nord, par Bourguignat (1862 et 1864), Pallary (1921, 1923), Seurat (1923), Brown (1980), Van Damme (1984), Kristensen (1985), Ramdani *et al.* (1987) est imputable, comme nous l'avons déjà signalé plus haut, à la confusion avec des coquilles d'espèces de *Mercuria* qui sont sympatriques. Par exemple, dans l'échantillon du MNHNP de Boufarik, récolté à 25 km au sud d'Alger, après réhydratation du matériel, nous avons constaté effectivement la présence d'individus appartenant aux deux genres en considérant la forme du pénis. L'échantillon de 1929 conservé à l'ISR contient également *P dupotetiana* en mélange avec des *Mercuria*. sp. La forme du pénis est comparable chez les diverses populations examinées avec quelques minimes différences liées à l'état de conservation des spécimens

Par rapport aux autres espèces bien connues, *P lucensis* (Issel, 1866) d'Italie est plus haute (2,4 mm), relativement plus étroite (1,5 mm) que *P dupotetiana*, avec un rapport hauteur/largeur plus élevé (1,49) et une ouverture détachée (Giusti et Pezzoli, 1980). La forme du pénis est comparable bien que son extrémité soit moins pointue d'après Boeters (1971, fig. 3) et Giusti & Pezzoli (1980, fig. 9I). Le canal de la bourse copulatrice est aussi plus long ainsi que le receptacle séminal plus long et tubuleux. L'autre espèce connue d'Italie, *P. moussonii* (Calcara, 1841) se caractérise par une plus grande taille (2,7 à 3,2 mm) et montre une structure penale tres différente (Giusti et Pezzoli, 1980, fig. 10D).

La comparaison avec l'espèce de Tunisie *P meluzzii* Boeters, 1976 révèle une parfaite identité des coquilles avec *P. dupotetiana*. On note le même rapport biométrique hauteur / largeur (1,2 à 1,3). Les photos 12 et 13 de Boeters (1976) montrent des spécimens à large ouverture, mesurant 2,1 à 2,6 mm de long et 1,8 à 2 mm de large. La différence avec *P dupotetiana* est d'ordre anatomique, marquée chez *P meluzzii* par l'absence de pigmentation à l'extrémité du pénis, une plus petite bourse copulatrice et un receptacle séminal long et tubuleux (Boeters, 1976, fig. 2 et 3).

Habitat: Du point de vue écologique et géographique, les récoltes les plus récentes de *Pseudamnicola dupotetiana* proviennent de sources à eau courante, limpide et de bonne qualité (source Ain Aghbal, stat. 1, source Chbouka, stat. 5), de ruisseaux situés juste en aval des sources (Oued Chbouka stat. 5, Sidi Addi stat. 2, El Heri, stat. 7; Oued Bazza, stat. 11) et de résurgences alimentant les dayas (dayet Ahouli, stat. 9). Les spécimens récoltés par Dollfus en 1925 (MNHNP) sont originaires de l'Oued Djenanimes au Moyen Atlas, qui reçoit de nombreuses sources. Les "ruisseaux argileux et côtiers" des récoltes de Forbes en Algérie sont des habitats limites pour l'espèce qui conviennent écologiquement d'avantage aux espèces de *Mercuria* plus potamophiles, sauf si les récoltes ont lieu au niveau de résurgences de ces ruisseaux côtiers, comme c'est le cas de Ain Hadjar au Maroc qui est à l'origine d'un petit ruisseau côtier située près d'Essaouira, échantillon conservé au MNHNP. Dans les ruisseaux de plaine, *P. dupotetiana* est largement remplacée par les représentants de *Mercuria*, comme dans l'échantillon de Boufarik en Algérie et des ruisseaux de la plaine du Haouz du Haut Atlas au Maroc (stat. 12, fig. 2).

Nos observations permettent de constater que l'espèce est extrêmement sensible à l'anthropisation des milieux. En effet, les prélèvements de 1929, réalisés dans les fontaines de Marrakech, renferment *P. dupotetiana* alors que ces mêmes gîtes en sont actuellement dépourvus. De même, on peut supposer que ce mollusque était aussi présent dans l'échantillon de Morelet (1880) récolté "... dans les fontaines autour de la ville" (de Marrakech), alors que nous n'avons jamais pu l'identifier au cours de nos prospections dans les différents points d'eau actuels de la cité. Par contre, dans le Moyen Atlas au niveau de la source d'Ain Aghbal (stat. 1), *P. dupotetiana* est actuellement très abondant puisque l eau est utilisée pour la salmoniculture de la station piscicole d'Azrou entraînant *ipso facto* sa protection. Ces données bibliographiques et nos constatations démontrent la large distribution d'autrefois de l'espèce aux résurgences de la nappe phréatique qui servaient de fontaines.

Il faut également noter que la source d'Ain Aghbal présente une grande richesse spécifique en mollusques dont 4 espèces d'Hydrobiidae, *P. dupotetiana*, *P.* cf. *spirata*, *P.* cf. *conovula*, *Horatia* sp. (en cours de description), trois morphes de *Melanopsis*, *Lymnaea (Radix) peregra* (Müller), *Anisus spirorbis* (L.), *Lymnaea (Galba) truncatula* (Müller), *Ancylus fluvnatilis* Muller et deux espèces de *Pisidium*.

Pseudamnicola (Pseudamnicola) cf. *spirata* (Paladilhe,1869)

Référence originale: *Amnicola spirata* Paladilhe, 1869: 231.
Localité type: "... aux environs de Banolas (Catalogne) et près de Salces (Pyrénées orientales)...".
Autre référence: *Mercuria similis* - Ramdani *et al.*,1987: 136

Matériel examiné. Ain Aghbal (stat. 1): (fig. 8-9, MHNP) 20 coquilles (GHA 132) et dissections M et F (GHA 133), Sidi Addi (stat. 2) 2 coquilles (GHA 134), Ouiwane (stat. 3) 2 coquilles et dissections, 1 M (GHA 135), Timdighas (stat. 8): Coll. Lavezzari, 5 coquilles (MNHNP).

Description

Coquille (fig. 8-9). Ovoide, formée de 4 tours et 1/2; suture profonde, tours étagés à bords moins convexes, apex obtus, parfois en bouton, péristome continu, ouverture ovalaire, non détachée, bord externe évasé et bord columellaire réfléchi sur l'ombilic, test corné, marron clair et translucide. Opercule corné, paucispiral avec 2 tours et 1/2 peu apparents. Hauteur plus grande que chez *P. dupotetiana* (Tableau 1) pouvant dépasser 3 mm, rapport hauteur / largeur oscillant entre 1,3 et 1,5. Animal pigmenté, avec tentacules longs et effilés et des taches oculaires marquées.

Mâle (fig. 30): pénis cylindrique avec base large et extrémité tronquée, nombreux rides bordant le côté gauche, aucune plage pigmentaire nette sur face dorsale. Canal déférent parcourant le bord droit et débouchant à l'extrémité du pénis.

Femelle (fig. 37, 41, 45): structure générale comparable à celle de *P. dupotetiana* Oviducte rénal pigmenté, bourse en forme de sac non replié; canal d'attache court. Receptacle séminal plus globuleux que celui de *P. dupotetiana*. Cténidium formé de 22 lamelles.

Discussion

Notre matériel concorde avec la diagnose de *P. (P.) spirata* donnée par Boeters (1988: fig 75 à 77), avec des coquilles pouvant atteindre également des tailles de 3 à 3,5 mm de hauteur et 2 à 2,5 mm de largeur. Le pénis de section triangulaire, à orifice subterminal et sans zone pigmentée sont des caractères signalés chez certains spécimens par Boeters (1988, fig. 76). La forme de la bourse copulatrice est comparable à celle des individus de Gerona, Banolas (Boeters,1988, fig. 81) avec un receptacle séminal en tube court et dont le départ est proche du point de rencontre du canal de la bourse avec le canal ventral.

Pseudamnicola (P.) spirata est localisée dans les îles Baléares et au Nord Ouest de l'Espagne (Boeters, 1988). Nous ne l'avons pas récoltée dans les sources du Rif. Sa distribution au Maroc semble limitée aux sources du Moyen Atlas central Pour ces raisons de biogéographie, nous utilisons l'appelation *P.* cf. *spirata* pour les spécimens du Maroc, dans l'attente d'une comparaison plus minutieuse avec les types de Paladilhe et les échantillons de Boeters.

Entre *P.* cf. *spirata* et *P. dupotetiana*, si les différences anatomiques sont minimes, les coquilles sont bien distinctes. Dans la nature, les deux espèces vivent en sympatrie dans la source d'Ain Aghbal comme l'atteste notre analyse biométrique de la population malacologique. Cependant, les formes juvéniles de *P.* cf. *spirata* peuvent être confondues avec *P. dupotetiana.* alors que pour les adultes, la structure de l'ouverture et la convexité de la spire distinguent parfaitement les deux espèces.

Habitat: L'espèce est crénobionte, vivant dans les sources et ruisseaux.

Distribution: Pyrénées orientales (Paladilhe, 1869), Espagne et îles Baléares (Boeters, 1988), Maroc (ce travail).

Pseudamnicola (Pseudamnicola)* cf. *conovula (Frauenfeld, 1863)

Description originale: *Amnicola conovula* Frauenfeld, 1863: 1026.
Localité type: "...Pago, Corsica, Dalmatien, Croatien,..." (Frauenfeld), restreinte à l'île de Pag (Croatie) par Radoman (1972).

Matériel examiné: Ain Aghbal (stat. 1): (fig. 10-11, MNHNP), 12 coquilles (GHA 137) et 2 M (GHA 138), Aiyoune Oum Rbi (stat. 4): 2 coquilles (GHA 139), source Ouiwane (stat 3): 4 coquilles (GHA 140), mare Tit Zil (stat. 10): 4 coquilles (GHA 141) et 2 F (GHA 142).

Description

Coquille (fig. 10,11): Taille intermédiaire entre celle de *P. dupotetiana* et *P.* cf. *spirata*: hauteur comprise entre 2,6 et 3,2 mm, rapport hauteur / largeur variant entre 1,3 et 1,4 (tableau 1). Quatre tours et 1/2, séparées par une suture profonde, spire convexe, dernier tour non ventru. Ouverture détachée, péristome continu, bord supérieur anguleux, bord columellaire non réfléchi, ombilic en fente ouverte et étroite, bord externe non évasé, test laiteux finement costulé. Animal pigmenté, tentacules trapus, pigmentés sur les bords, taches oculaires petites.

Mâle (fig. 33): pénis très développé, aplati, bords ridés, extrémité pointue avec des taches pigmentaires diffuses. Canal déférent plus net à l'extrémité. Base courte et pliée. Cténidium formé de 17 à 20 lamelles.

Femelle (fig. 38, 42, 46).

Discussion

Les mensurations des coquilles sont identiques à celles rapportées par Radoman (1972) pour des individus de Yougoslavie: hauteur de 2,5 à 3 mm, largeur de 1,6 à 2 mm (rapport hauteur / largeur de 1,42 à 1,44) et a celles des formes tunisiennes (Boeters, 1976). Si nos spécimens atteignent rarement 3,2 mm, ceux d'Italie varient de 3 à 4 mm (Giusti & Pezzoli, 1980). La forme et le développement du pénis avec un canal déférent visible à l'extrémité, ainsi que le receptacle séminal et la bourse

copulatrice concordent aux indications de Boeters (1976) pour les formes tunisiennes (fig 48 d'après Boeters,1976, fig 5). Ce même auteur, indique une différence sexuelle au niveau du cténidium avec 18 lamelles chez la femelle et 21 chez le mâle.

L'espèce vit en sympatrie avec *P. dupotetiana* et *P. cf. spirata* dans la source Ain Aghbal (stat. 1, fig. 3). L'ouverture détachée de la coquille, le test finement costulé, l'ombilic ouvert et le péristome non évasé la différencie de *P. cf. spirata*. En plus de ces caractères, les mensurations de la coquille (Tableau 1) permettent de la distinguer de *P. dupotetiana*.

Habitat: L'espèce est crénobionte vivant dans les sources.

Distribution: Croatie (Radoman, 1972), Tunisie (Boeters, 1976), Italie (Giusti et Pezzoli, 1980, Cossignaru, 1995) et Maroc (présent travail).

Pseudamnicola (Pseudamnicola) leprevieri (Pallary, 1926)

Référence originale: *Amnicola l'eprevieri*, Pallary, 1926: 252.

Localité type: "... Timdighas, région de Khénifra ... récoltée par le Lieutenant de L Eprevier."

Matériel type: Syntypes, Timdighas (= stat 8, fig. 1), coll. Pallary, 3 coquilles (ISR)

Autre référence. *Mercuria similis* - Ramdani *et al.* 1987.

Matériel examiné: Les syntypes (ISR) et — Chbouka (Stat 5) 3 coquilles (fig 12 à 16, MNHNP,, 10 coquilles (GHA 170) 2M et 3F (GHA 172); Azerzou (Stat. 6), coll. Pallary: 2 coquilles (ISR).

Description

Coquille (fig. 12-16): Grande taille avec une hauteur de 3 à 3,8 mm et une largeur de 2 à 2,5 mm (Tableau 1). Spire avec tours étagées en gradins, séparés par des sutures très profondes. Spire convexe et dernier tour très ventru. Ouverture ovale, oblique, légèrement détachée, peristome continu à bords tranchants non évasés, ombilic en fente longue et large, bord supérieur anguleux, bord columellaire faiblement réfléchi. Apex souvent corrodé comme tous les échantillons provenant des sources Chbouka et Ouiwane. Animal pigmenté; tentacules longs avec des taches oculaires marquées par une pigmentation en forme d'amas triangulaires proéminents.

Mâle (fig. 29). pénis aplati dorso-ventralement, nombreuses rides sur le bord gauche, extrémité non pointue et faiblement tachetée. Canal déférent, peu net, parcourant le bord droit jusqu'à l'extrémité du pénis Face dorsale du pénis avec pigmentation superficielle noire qui se détache facilement au toucher. Base courte et étroite. Prostate glandulaire 0.8 x 0.3 mm et un canal spermatique visible tout le long. Cténidium avec 8 lamelles branchiales proximales isolées et 12 à 14 lamelles disposées dans deux plans presque perpendiculaires. Osphradiole en fente elliptique.

Femelle (fig. 36, 43, 44): bourse copulatrice volumineuse, en forme de sac non recourbé. Oviducte pigmenté. Receptacle séminal, en forme de tube, situé loin après le point d'attache du pédoncule de la bourse copulatrice. Utérus très développé et non glandulaire avec un gonopore terminal.

Discussion:

La coquille de *P. leprevieri* se distingue nettement des coquilles des autres *Pseudamnicola* par l'aspect scalariforme des tours bien étagés en gradins. Cette structure a été notée en Tunisie par Boeters (1976) sur le dernier tour de *Mercuria confusa* (Frauenfeld) (= *Amnicola subscalaris* Paladilhe), espèce de grande taille, ayant une spire élancée. Après dissection du matériel frais, nous rangeons aussi parmi les *Mercuria* des spécimens récoltés dans le Rif, dont la coquille présente un dernier tour scalaire tout comme *Mercuria ricardi* (Pallary, 1921: *Amnicola*) récoltée à Essaouira. Finalement, *P. leprevieri* se distingue de toutes ces formes par l'aspect scalaire qui concerne tous ses tours nettement étagés en gradins. Les spécimens frais que nous avons récoltés dans la source Chbouka ont des coquilles identiques à ceux des syntypes de Timdighas et des spécimens d'Azerzou de la collection Pallary conservés à l'ISR Les similitudes sont également frappantes en examinant les photos données par Pallary (1926, planche III, fig. 39 à 41). Toutes les localités de récolte de cette

espèce sont situées dans le Moyen Atlas, à l'amont du bassin hydrologique de l'oued Oum Rbi (fig. 2). Ainsi, l'observation de l'animal nous permet de compléter la diagnose de *P. leprevieri* décrite auparavant uniquement sur des caractères de coquilles vides par Pallary (1926).

Habitat: L'espèce est crénobionte vivant dans les sources

Distribution: Espèce endémique du Maroc dont la distribution connue est limitée au Moyen Atlas: Azerzou, Timdighas (Pallary, 1926), source Chbouka (ce travail).

Pseudamnicola (Pseudamnicola) pallaryi n.sp.

Amnicola l'eprevieri, Pallary 1926, *pro parte*

Localité type: Source Chbouka (Stat. 5, fig. 1) dans le Moyen Atlas, Maroc.

Matériel type: Holotype (fig. 18) et paratype (fig. 17) de la localité type, déposés au MNHNP; autres paratypes: 20 coquilles (GHA 180) dissections (GHA 181) de la localité type, dans la collection personnelle de M. Ghamizi. Paratypes: Timdighas, coll. Pallary (ISR), séparés d'un lot étiqueté "*Amnicola l'Eprevieri*")

Matériel examiné: Le matériel type et — Ouiwane (Stat. 3): 3 coquilles (GHA 183), dissections (GHA 184); Azerzou (Stat. 6), Coll. Lavezzari "*Bithynella gracilis* Morelet" (MHNP).

Description

Coquille (fig. 17, 18, 48 à 51): très élancée, 4 tours déliés à bords parallèles brisés donnant un aspect de carènes scalariformes. Epaississements spiraux évoluant parallèlement aux sutures. Deux carènes chez les jeunes au niveau du dernier tour. Protoconque en bouton plat dépourvue de carène. Ouverture ronde, polygonale, péristome continu, bords tranchants, bord columellaire légèrement réfléchi. Ombilic fermé, en fente elliptique. Hauteur de 2,3 à 2,7 mm, largeur maximale de 1,4 à 1,7 mm, rapport hauteur / largeur de 1,6 à 1,7. Animal pigmenté, moins intensemment chez la femelle. Tentacules effilées. Cténidium (fig. 58) formé de 20 à 22 lamelles globuleuses.

Mâle (fig. 31, 32, 54 à 57): pénis robuste, base large, ridée, un fouet distinct, non pigmenté, cylindrique, extrémité effilée. Canal déférent plus net à la base du pénis.

Femelle (fig. 39, 52, 53): glande capsuleuse de petite taille, gonopore terminal, oviducte pigmenté, bourse copulatrice de petite taille, receptacle séminal indiscernable.

Discussion

La coquille élancée est plus étroite que chez toutes les *Pseudamnicola* déjà décrites. Malgré la grande taille de la coquille, l'appareil génital femelle est réduit en comparaison avec celui des autres espèces. L'espèce vit en sympatrie avec *P. leprevieri*, dans la source Chbouka et en diffère nettement par la forme multicarénée de la coquille, par l'avant dernier tour non ventru, par la structure du pénis et de l'appareil génital femelle.

Parfois, la corrosion des coquilles peut aboutir à des carènes plus effacées mais la forme du péristome à bords brisés demeure caractéristique. Cet aspect différencie *P. pallaryi* n.sp. des coquilles analogues sympatriques qui correspondent vraissemblablement à des *Belgrandia sp* (fig. 19). La forme polygonale du péristome et des tours à bords comprimés se retrouvent également chez *Belgrandia heussi alcoaensis*, rapportée du Portugal par Boeters (1988, fig. 41, planche 3). Cependant, sa taille est nettement plus petite (1,8 mm), la spire moins convexe et l'anatomie différente par la présence d'un lobe pénial chez le mâle et d'un oviducte non pigmenté chez la femelle (Boeters, 1988, fig. 179 et 180).

Derivatio nominis: Nous dédions cette espèce à Paul Pallary qui a beaucoup contribué à la connaissance de la malacofaune marocaine et qui avait remarqué ces spécimens dans le passé sans pourtant penser à une nouvelle espèce. Il notait en 1926: ". chez quelques exemplaires (en parlant de

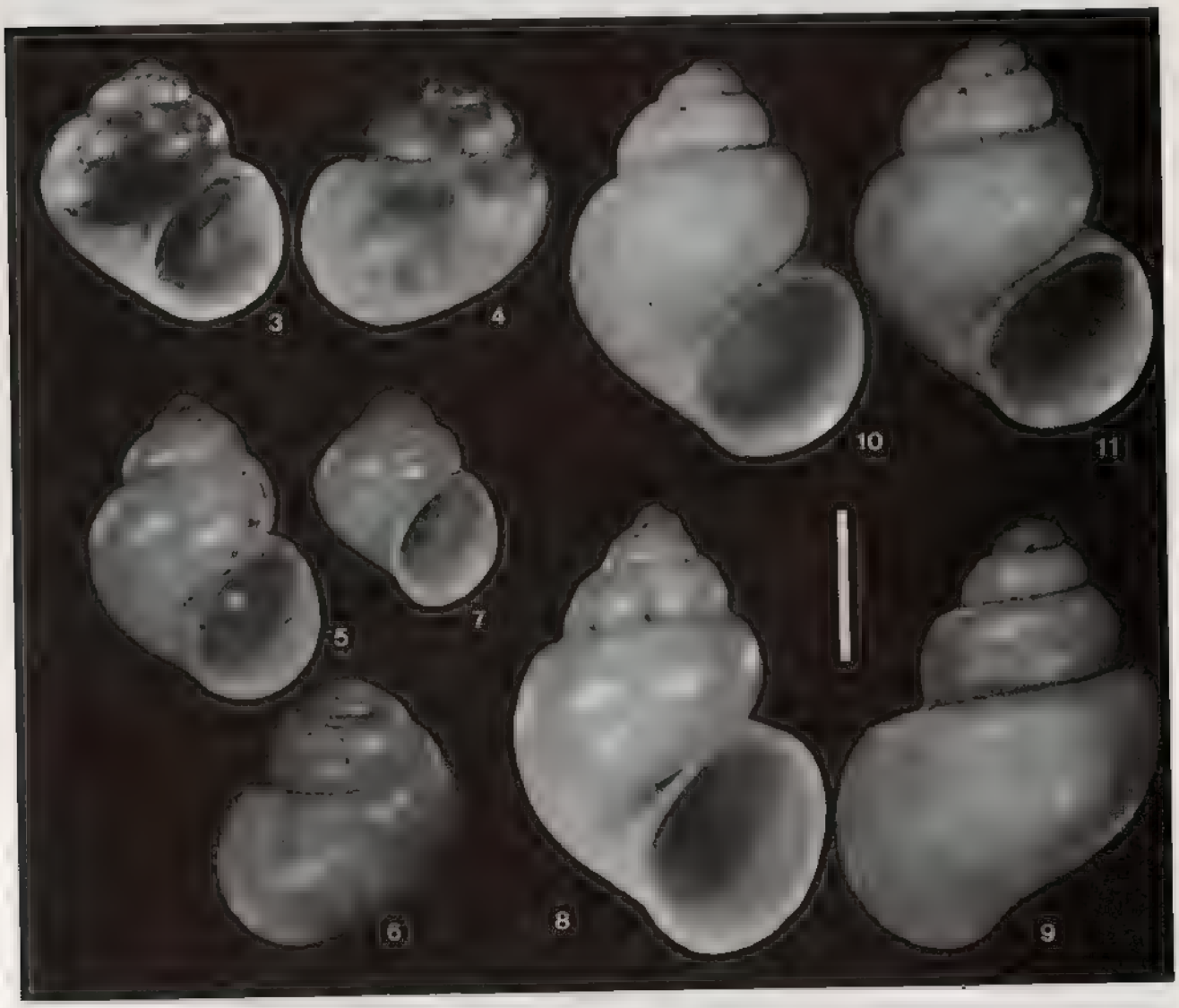
Tableau 1. Mensurations comparées des coquilles de *Pseudamnicola* spp. (en mm). AH= grand diamètre de l'ouverture (Aperture height), AW= petit diamètre de l'ouverture (Aperture width), SH= hauteur de la coquille (shell height), SW= largeur de la coquille (shell width). Min= valeur minimale, Max= valeur maximale, N= nombre d'individus mesurés. Références. (a) Forbes 1838, (b) Bourguignat 1864, (c) Radoman 1972 et (d) Boeters 1988.

ESPECES		SH	SW	SH/SW	AH	AW	AH/AW
P. dupotetiana							
Ain Aghbal	Min - Max	1,90 - 2,20	1,56 - 1,68	1,22 - 1,31	1,16 - 1,18	0,80 - 0,90	1,31 - 1,45
N= 30	Moyenne	2,03	1,59	1,27	1,16	0,85	1,36
Chbouka	Min - Max	2,10 - 2,33	1,50 - 1,93	1,20 - 1,40	1,15 - 1,26	0,80 - 0,90	1,40 - 1,44
N= 5	Moyenne	2,23	1,72	1,29	1,21	0,87	1,4
Bougie / Alger (a)		2,5	2,1	1,2	-	-	-
N = 1		(=1/10")	(=1/12")	1,2	-	-	-
Algérie (b)		3,00 - 5,00	2,00 - 3,00	1,50 - 1,70	-	-	-
P. cf. conovula							
Ain Aghbal	Max - Mi	2,90 - 3,20	2,04 - 2,18	1,42 - 1,47	1,38 - 1,45	1,08 - 1,10	1,28 - 1,32
N = 12	Moyenne	3,09	2,14	1,44	1,43	1,09	1,31
Tit Zil	Min - Max	2,80 - 3,20	1,95 - 2,10	1,43 - 1,55	1,36 - 1,45	1,08 - 1,10	1,26 - 1,32
N = 4	Moyenne	2,97	2	1,48	1,4	1,09	1,28
Oum Rbi	Min - Max	2,54 - 2,70	1,87 - 2,00	1,35 - 1,36	1,28 - 1,30	0,90 - 1,00	1,30 - 1,42
N = 2							
Ouiwane	Min - Max	2,90 - 3,00	1,96 - 2,00	1,48 - 1,50	1,40 - 1,42	1,10 - 1,10	1,27 - 1,29
N = 2							
Yougoslavie (c)	Min - Max	2,50 - 3,00	1,60 - 2,00	1,50 - 1,56	1,30 - 1,70	0,90 - 1,20	1,42 - 1,44
P. cf. spirata							
Ain Aghbal	Min - Max	2,45 - 3,20	1,80 - 2,26	1,30 - 1,42	1,43 - 1,50	1,00 - 1,10	1,36 - 1,43
N = 18	Moyenne	2,95	2,15	1,38	1,48	1,06	1,39
Sidi Addi	Min - Max	3,05 - 3,15	2,23 - 2,3	1,36 - 1,37	1,60 - 1,80	1,20 - 1,24	1,33 - 1,45
N = 2							
Timdighas		3,2	2,25	1,42	1,66	1,35	1,23
N = 1							
Espagne (d)	Min - Max	2,60 - 3,20	1,90 - 2,40	1,33 - 1,52	1,40 - 1,90	1,10 - 1,50	1,27 - 1,54
N = 4	Moyenne	3	2,15	1,39	1,67	1,22	1,37
P. leprevieri							
Chbouka	Min - Max	3,00 - 3,80	2,00 - 2,50	1,35 - 1,60	1,30 - 1,70	1,00 - 1,38	1,20 - 1,30
N= 5	Moyenne	3,30	2,30	1,46	1,60	1,20	1,30
Azerzou	Min - Max	2,90 - 3,00	2,00 - 2,10	1,43 - 1,45	1,30 - 1,30	1,00 - 1,00	1,30 - 1,30
N = 2							
Timdighas	Min - Max	3,00 - 3,10	2,00 - 2,10	1,47 - 1,50	1,30 - 1,35	1,10 - 1,15	1,17 - 1,18
N = 2							
P. pallaryi							
Chbouka	Min - Max	2,30 - 2,70	1,40 - 1,70	1Ò,60 - 1,80	0,90 - 1,20	0,80 - 0,85	1,12 - 1,25
N= 14	Moyenne	2,58	1,6	1,75	1	0,8	1,2
Ouiwane	Min - Max	2,30 - 2,50	1,40 - 1,50	1,60 - 1,70	0,90 - 1,00	0,8	1,15 - 1,25
N = 6	Moyenne	2,4	1,43	1,65	0,96	0,8	1,18

P. leprevieri) la carène est double...". Cette nouvelle espèce est la seule forme multicarénée trouvée jusqu'à présent dans le genre *Pseudamnicola*. Elle diffère des espèces de Pyrgulidae (à coquille parfois comparable) par le faible nombre de carènes, par la présence des denticules à la base de la dent centrale de la radula (caractère des Hydrobiidae) et par la présence d'un oviducte pigmenté.

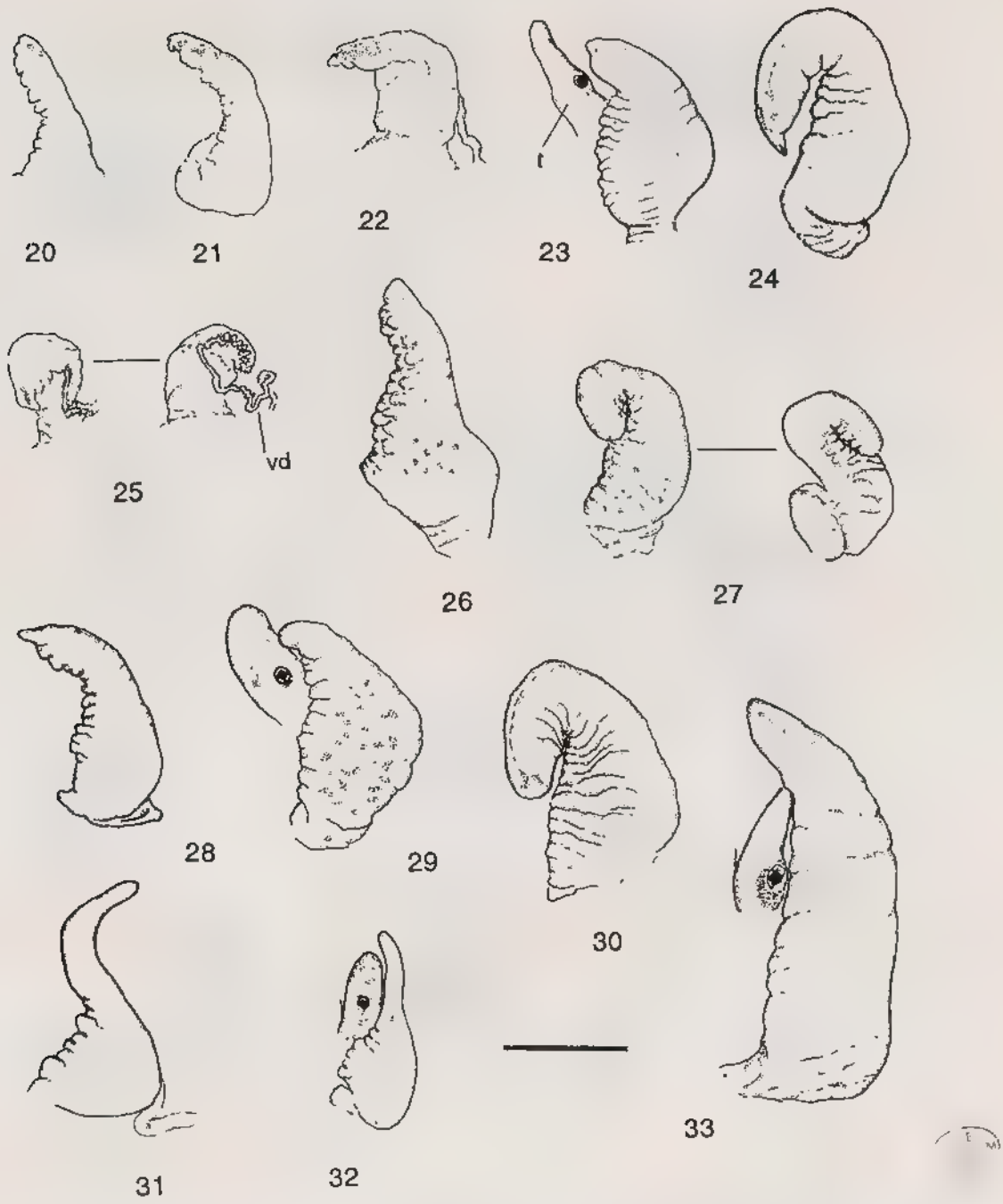
Habitat: L'espèce est crénobionte vivant dans les sources.

Distribution: Espèce endémique des sources du Moyen Atlas du Maroc: Source Chbouka et source Ouiwane (ce travail), Azerzou (Coll. Lavezzari, MNHNP) et Timdighas (Pallary, 1926, ISR).

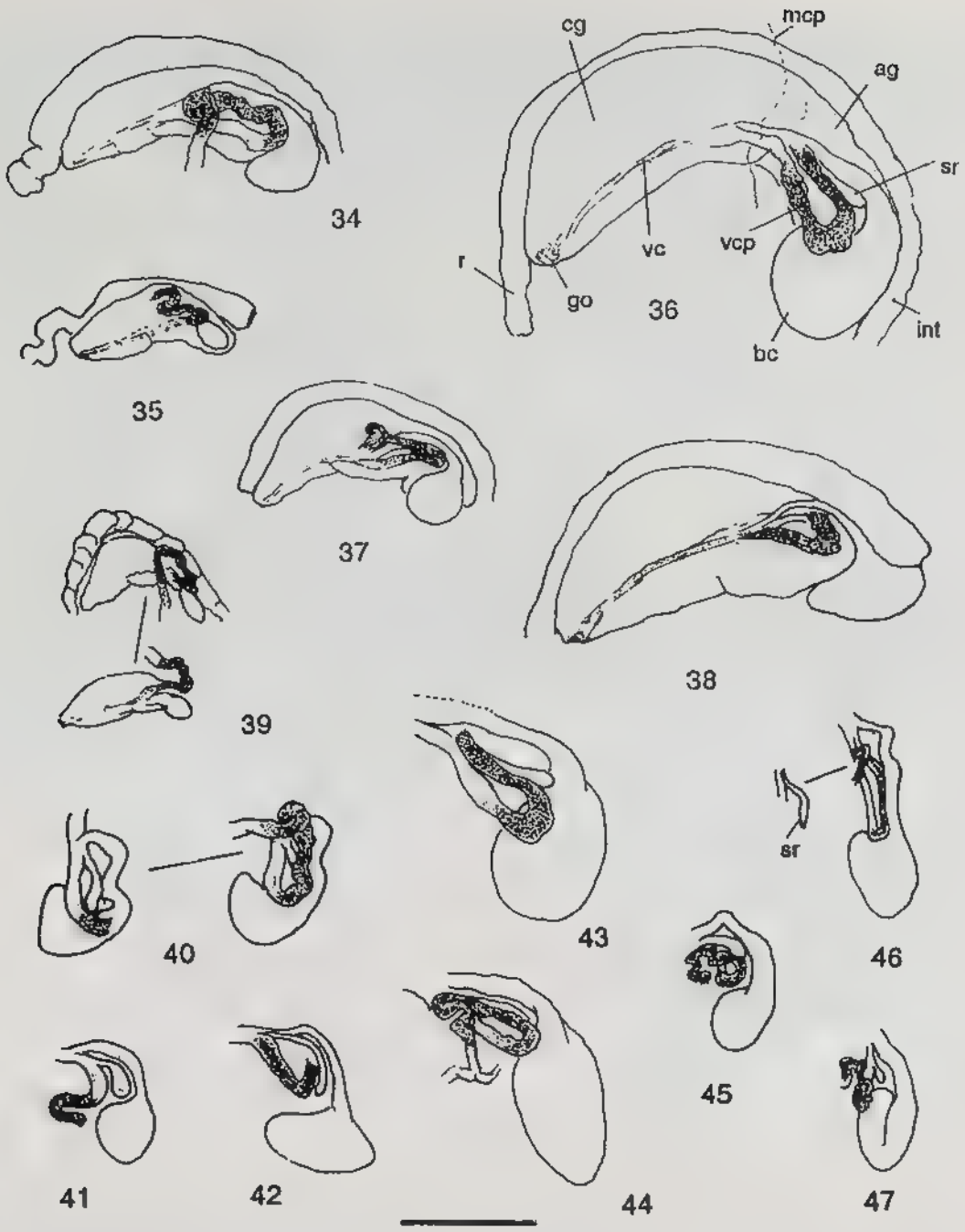


Figures 3-4. *Pseudamnicola dupotetiana* Forbes, 1838. Néotype de Bejaia, Algérie.
Figures 5-7 *Pseudamnicola dupotetiana* Forbes, 1838. Spécimens d'Ain Aghbal (7 forme juvénile)
Figures 8-9. *Pseudamnicola* cf. *spirata*. (Paladilhe, 1869) d'Ain Aghbal.
Figures 10-11. *Pseudamnicola* cf *conovula* (Frauenfeld, 1863) d'Ain Aghbal. Trait d'échelle 1 mm

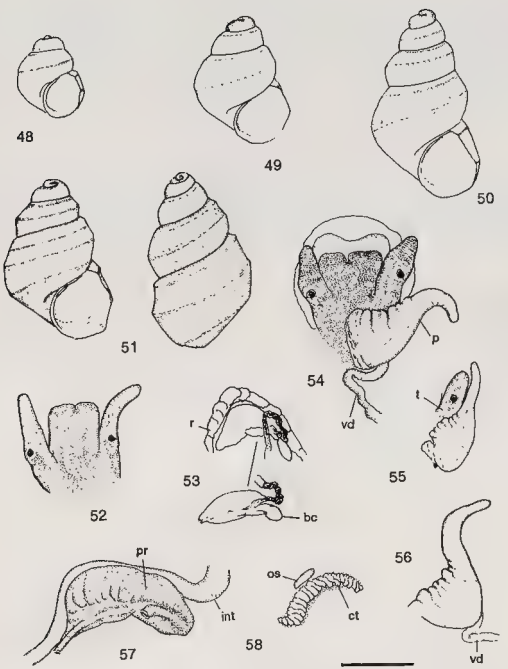
Figures 12-16. Morphes de *Pseudamnicola leprevieri* (Palary, 1926) de la source Chbouka.
Figures 17-18 *Pseudamnicola pallaryi* n sp. de la source Chbouka. (17 paratype, 18 holotype, MNHN)
Figure 19. *Belgrandia* sp. de la source Ouiwane. Trait d'échelle 1 mm.



Figures 20 à 33 Pénis de *Pseudamnicola* spp — 20-21: *P. dupotetiana*, Alger "champ de manoeuvres". 22: *P. dupotetiana*, Bougie (=Bejaia), coll Brondel. 23: *P. dupotetiana*, Sidi Addi (stat. 2). 24: *P. dupotetiana*, Ain Aghbal (stat. 1). 25: *P. dupotetiana*, Bougie (=Bejaia), coll. Denis, même population que le néotype fig. 3-4. 26-28: *P. dupotetiana*, Source Chbouka (stat. 5) 29: *P. leprevieri*, Source Chbouka (stat. 5). 30: *P* cf. *spirata*, Source Ouiwane (stat. 3). 31: *P. pallaryi* n sp., Source Chbouka (stat. 5). 32: *P. pallaryi* n.sp., Source Ouiwane (stat. 3) 33: *P.* cf. *conovula*, Ain Aghbal (stat. 1) — t= tentacule, vd= vas déférent. Trait d'échelle 0,5 mm



Figures 34 à 47. *Pseudamnicola* spp. femelles, détails des génitalia. — 34, 40: *P. dupotetiana.*, Aïn Aghbal (stat. 1). 35: *P. dupotetiana.*, Aiyoune Oum Rbi (stat. 4). 36, 43, 44: *P. leprevieri*, Source Chbouka (stat. 5). 37, 41: *P. cf. spirata*, Aïn Aghbal (stat. 1). 38, 42: *P. cf. conovula*, Mare Tit Zil (stat. 10). 39 *P. pallaryi* n.sp , Source Chbouka (stat. 5). 45: *P. spirata* (d'après Boeters, 1988). 46: *P. conovula* (d'après Boeters, 1976). 47: *P. (Corrosella)* (d'après Boeters, 1988). — ag= glande de l'albumine, bc= bourse copulatrice, cg= glande de la capsule, go= gonopore, int= intestin, mcp= limite postérieure de la cavité palléale,r= rectum, sr= receptacle séminal, vc= canal ventral, vcp= canal ventral postérieur (oviducte rénal). Trait d'échelle 0,5 mm.



Figures 48 à 58. *Pseudamnicola pallaryi* n.sp. — 48 à 51: stades de croissance de la coquille montrant le développement progressif des carènes sur les tours , Source Chbouka. 52: tête de la femelle, Source Chbouka. 53: génitalia femelles. Source Chbouka. 54. tête du mâle, Source Chbouka. 55, 56: pénis d'autres individus, Source Ouiwane. 57: prostate du mâle, Source Chbouka. 58: cténidium, Source Chbouka. — bc= bourse copulatrice, ct= ctenidies, int= intestin, os= osphradiole, p= pénis, pr= prostate, r= rectum, t= tentacule, vd= vas déférent. Trait d'échelle 0,5 mm.

CONCLUSIONS

Cette étude préliminaire sur les *Pseudamnicola* au Maroc montre la difficulté d'approche dans la systématique de ces petits Prosobranches en Afrique du Nord. Nombreuses espèces décrites dans le passé, uniquement sur les caractères conchyliologiques, sous le nom générique *Amnicola* appartiennent à de multiples genres dont *Hydrobia, Mercuria* ou encore *Pseudamnicola*. A cause de leur grand polymorphisme au niveau de la coquille, de nombreuses synonymies sont actuellement établies en complétant les diagnoses spécifiques par l'étude de la morphologie des éléments génitaux mâles et femelles. Par ce biais, nous avons déterminé avec certitude 5 espèces de *Pseudamnicola* (*Pseudamnicola*) au Maroc dont une nouvelle entité, *Pseudamnicola* (*P.*) *pallaryi* n. sp.

REMERCIEMENTS

Ce travail a bénéficié d'une subvention de deux actions intégrées franco- marocaine 331 / 88 et 643 / 93. Nous tenons à remercier Monsieur le Professeur Doumenc, directeur du B.I.M.M au Muséum National d'Histoire Naturelle de Paris qui nous a accueilli dans son laboratoire, et permis de consulter des échantillons et de réaliser des photos avec l'aide du Dr. Serge Gofas. Nous remercions également M. M. Khodari, Directeur du Centre National de Recherche Hydrobiologique et Piscicole d'Azrou, pour la logistique mise à notre disposition lors des prospections des sources du Moyen Atlas.

RÉFÉRENCES

Adam W., 1960. *Faune de Belgique. Mollusques terrestres et dulcicoles,* tome 1. Institut Royal des Sciences Naturelles de Belgique , Bruxelles, p. 1-402.

Backhuys W. & Boeters H.D., 1974 Zur Kenntnis marokkanischer Binnenmollusken, I. *Archiv fur Molluskenkunde*, **104** (4/6): 107-114.

Boeters H D., 1971. *Pseudamnicola* Paulucci 1878 und *Mercuria* n gen. *Archiv fur Molluskenkunde*, **101**(1/4). 175- 181.

Boeters H.D., 1976. Hydrobiidae Tunesiens. *Archiv fur Molluskenkunde*, **107**(1/3): 89-105.

Boeters H D., 1988. Moitessieriidae und Hydrobiidae in Spanien und Portugal (Gastropoda, Prosobranchia). *Archiv fur Molluskenkunde*, **118**(4/6): 181-261.

Bourguignat M. J R., 1862. *Paléontologie des mollusques terrestres et fluviatiles de l'Algérie.* Baillière, Paris.

Bourguignat M. J. R., 1864. *Malacologie de l'Algérie. Histoire naturelle des animaux. Mollusques terrestes et fluviatiles,* tome II. Challamel Bastid, Paris, p. 1-372.

Bourguignat M. J. R., 1887. *Etude sur les noms génériques des petits Paludinidés à opercule spirescent, suivie de la description du nouveau genre Horatia*. Imprimerie Mme. Vve. Tremblay, Paris, p. 1-46.

Brown D S , 1980. Freshwater snails of Africa and their medical importance, p. 1-433. Taylor and Francis, Londres, p. 1-433.

Cossignani T.V., 1995. *Atlante delle Cochiglie terrestri e dulciacquicole Italiane.* L'Informatore Piceno, Ancona, p. 1-208.

Forbes E., 1838. On the Mollusca of Algiers and Bougia Annals of Natural History, 2nd series (1838). 250-255.

Frauenfeld G., 1863. Vorläufige Aufzahlung der Arten der Gattungen *Hydrobia* Htm. und *Amnicola* Gld. Hldm. in der kaiserlichen und in Cuming's Sammlung. Verhand K.-K, Zool.-bot Ges. Wien, 13: 1017-1032.

Giusti F., 1979. Notulae malacologicae, XXIV. Il genere *Mercuria* (Prosobranchia, Hydrobioidea) nell' Isola di Sardegna (Studi sulla malacofauna di Sardegna e Corsica, IV). *Archiv fur Molluskenkunde*, **110**(1/3): 1-14

Giusti F. & Pezzoli E., 1980. *Guida per il riconoscimento delle specie animali delle acque interne Italiane 8. Gasteropodi, 2*. Consiglio Nazionale delle Ricerche, p. 1-66.

Kristensen T K., 1985. *Guide pratique des Gastéropodes d'eau douce Africains. Espèces présentes en Afrique*

Morelet A , 1880. La faune malacologique du Maroc. *Journal de Conchyliologie*, **28**: 5-83, pl. 1-3

Paladilhe A., 1869. Description de quelques Paludinidées, Assimineidées et Melanidées nouvelles. *Revue et Magasin de Zoologie* (2) **21**: 273-284.

Pallary P., 1898. Deuxième contribution à l'étude de la faune malacologique du Nord Ouest de l'Afrique. *Journal de Conchyliologie*, **46**: 49-170, pl. 5-9.

Pallary P., 1904. Quatrième contribution à l'étude de la faune malacologique du Nord Ouest de l'Afrique. *Journal de Conchyliologie*, **52**: 5-58, pl. 1-3.

Pallary P , 1921. Faune malacologique du Grand Atlas. *Journal de Conchyliologie*, **66**: 81-217, pl. 3-5

Pallary P., 1923. Descriptions de trois mollusques nouveaux du Maroc. *Bulletin de la Société des Sciences Naturelles du Maroc*, **3** (3/4): 78-79.

Pallary P , 1926. Compléments à la faune malacologique de la Berbérie. *Journal de Conchyliologie* **70**: 1-50, pl 1-8.

Paulucci M., 1878. *Matériaux pour servir à l'étude de la faune malacologique terrestre et fluviale de l'Italie et de ses îles*. Paris.

Radoman P., 1972. Nochmals über die Gattung *Pseudamnicola* und schließlich die Gattung *Orientalia* n. gen. *Archiv fur Molluskenkunde*, **102**(4/6): 195-200.

Ramdani M., Dakki M., Kharboua M , El Agbani M A. & Metge G., 1987. Les Gastéropodes dulcicoles du Maroc. Inventaire commenté. *Bulletin de l'Institut Scientifique*, Rabat, **11**: 135-140.

Seurat L.G., 1921. *Faune des eaux continentales de la Berbérie*. Université d'Alger, Fondation Joseph Azoubid, Travaux du Laboratoire de Zoologie Appliquée, p. 1-66

Smaldon G., Heppell D. & Watt K.R. 1976. Type specimens of Invertebrates (excluding Insects) held at the Royal Scottish Museum, Edimburgh. *Royal Scottish Museum Information Series, Natural History* **4**: i-iv, 1-118.

Van Damme D , 1984. The freshwater mollusca of Northern Africa. In: *Developments in hydrobiology* 25. (H.J Dumont, eds.) W. Junk Publishers, Dordrecht.

Haliotis **26**: 51-62 (1997) Société Française de Malacologie

Etude du cycle de reproduction de deux espèces de moules *Perna perna* (Linné, 1758) et *Mytilus galloprovincialis* Lamarck, 1819 dans la baie d'Agadir (Sud du Maroc)

Mohamed IDHALLA [1], Abdallah BOUHAIMI [1], Abderrahman ZEKHNINI [1], Jean François NARBONNE [2], Michel MATHIEU [3] et Abdellatif MOUKRIM [1]

RÉSUMÉ

La biologie des deux espèces de moules des côtes marocaines (la moule africaine *Perna perna* et la moule méditerranéenne *Mytilus galloprovincialis)* a été étudiée entre octobre 1993 et septembre 1994 dans la baie d'Agadir (Sud du Maroc) Deux sites ont fait l'objet de cette étude un site de référence (Cap Ghir) et un site pollué (Anza).

Le cycle de reproduction des deux espèces est étendu sur toute l'année avec trois périodes de ponte ou spermiation : deux facultatives (hivernale et estivale) et une principale (printanière). Les séquences du cycle sexuel sont synchrones chez les deux moules dans une même station.

L'effort de reproduction augmente avec la taille indépendamment de la station et de la saison Le recrutement a lieu durant toute l'année avec une intensité plus forte après les différentes périodes de ponte.

Dans le site pollué, le cycle de reproduction des moules connaît un déphasage des activités génitales par rapport à la station de référence. De plus, l'effort de reproduction est plus important à Anza qu'au Cap Ghir.

ABSTRACT

Reproductive cycle of two mussels *Perna perna* and *Mytilus galloprovincialis* from Agadir Bay (South of Morocco).

The reproduction of two species of mussels from the Moroccan coast (African mussel *Perna perna* and Mediterranean mussel *Mytilus galloprovincialis*) was studied between October 1993 and September 1994 in Agadir bay (South of Morocco) Two sites were considered : a reference site (Cap Ghir) and a polluted site (Anza).

The reproductive cycle of the two species spans over the whole year with three spawning periods : two optional (in winter and summer) and one principal in spring. In the same site, sexual events were synchronized for the two mussels.

The reproductive effort increases with size independently of station and season. Recruitment occurs year round with high intensity after spawning periods.

In the polluted site reproductive cycle of mussels shows dephasage of genital development, and more important reproductive effort.

[1] Laboratoire 'Eaux et Environnement", Département de Biologie, Faculté des Sciences, Université Ibnou Zohr. B.P. 28/S, Agadir, Maroc.

[2] Laboratoire de Toxicologie Alimentaire, Université de Bordeaux I, France

[3] Laboratoire de Biologie et Biotechnologie Marines, Université de Caen, France

INTRODUCTION

Les côtes atlantiques marocaines hébergent deux espèces de moules, la moule africaine *Perna perna* (Linné, 1758) qui se trouve à sa limite géographique nord, et la moule méditerranéenne *Mytilus galloprovincialis* Lamarck, 1819 qui se situe à sa limite géographique sud. Outre l'intérêt scientifique que présente l'étude du cycle de reproduction de ces moules dans cette zone de transition, elle est indispensable pour fournir les données de base nécessaires pour toute exploitation commerciale de ces mollusques, ainsi que pour leur utilisation comme espèces sentinelles pour la surveillance de la qualité du milieu marin.

Cependant, la revue de la littérature montre que les travaux réalisés sur la biologie des moules des côtes marocaines sont peu nombreux, fragmentaires et limités à la région de Rabat (Benbrahim, 1982 ; Kaoubai, 1983 ; Boutbib et El Boudrari, 1984 ; Shaffee, 1989; Naciri, 1990).

La baie d'Agadir est un écosystème à forte production primaire favorisée par les différents courants océaniques avec des variations de température plus importantes que dans les écosystèmes marins du nord du pays (Regragui, 1991). Ces facteurs (apport nutritionnel et température) peuvent avoir des conséquences majeures sur le déroulement des événements du cycle sexuel chez les mollusques bivalves (Lubet, 1981; Newell *et al.*, 1982; Bayne, 1976). Ces faits nous ont incité à entreprendre une étude comparative du cycle de reproduction de *Perna perna* et *Mytilus galloprovincialis* dans la baie d'Agadir. Notre travail prend aussi en considération l'effet de la pollution sur les différents aspects du cycle sexuel chez les deux mollusques.

MATERIEL ET METHODES

Sites étudiés

Deux stations ont été retenues pour la réalisation de cette étude (Figure 1):

i) Une station polluée : Anza (30° 26' N - 9° 38' W), à 10 km au nord d'Agadir, qui reçoit à la fois les rejets des eaux usées domestiques et industrielles de la ville d'Anza.

ii) Une station de référence : Cap Ghir (30° 38' N - 9° 53' W), à 50 km au nord d'Agadir, loin de toute activité humaine et caractérisée par un hydrodynamisme et un upwelling intenses.

Figure 1. Localisation des sites étudiés

Echantillonnage

Des prélèvements mensuels ont été effectués, dans les deux stations, entre octobre 93 et septembre 94. En effet, 2 à 3 moulières de 225 cm^2 sont complètement dénudées. Pour chaque espèce, 30 individus de taille supérieure à 3,5 cm sont récoltés au hasard sur toute la moulière et fixés sur place dans le liquide de Gendre. Après déshydratation à l'alcool et inclusion à la paraffine, les manteaux sont débités en coupes de 5 µm d'épaisseur et colorés à l'hématoxyline et au vert lumière. Les stades du cycle sexuel sont identifiés selon la classification de Lubet (1959) reprise par Wilson et Seed (1974), qui comporte 7 stades (Figures 2 et 3) :

Stade 0 (Repos sexuel), le sexe est indéterminé. Cette phase est caractérisée par l'accumulation de réserves constituées par des cellules adipogranuleuses et des cellules vésiculeuses. Le manteau est alors homogène et transparent.

Stade I : (Reprise de l'activité génitale), le développement commence par les premiers stades de la gamétogenèse, les jeunes groupes de cellules germinales étant éparpillés dans le manteau. Une lignée de spermatogonies et d'ovogonies apparaît sur le mur folliculaire .

Stade II : (Gamétogenèse), On y trouve tous les stades de la gamétogenèse. Une grande partie du manteau est occupée par des follicules. Dans ceux des femelles, les ovocytes continuent de croître en accumulant du vitellus. Dans les follicules mâles apparaît une large bande centripète de spermatogonies, spermatocytes et spermatides avec quelques spermatozoïdes libres dans le lumen.

Stade IIIA : (Maturité génitale), Le manteau est envahi par des follicules qui occupent presque toute la surface gonadique recouvrant ainsi le tissu conjonctif. Chez les mâles, une bande étroite des produits gamétogénétiques apparaît du côté de l'ouverture des follicules, les spermatozoïdes sont disposés en lamelles. Chez les femelles, les ovocytes sont bien développés et présentent une forme polygonale due à leur forte densité dans le follicule. A ce stade, les animaux sont facilement "excitables" et libèrent leurs gamètes sous l'action des stimuli externes.

Stade IIIB : (Emission des gamètes), La ponte et l'éjaculation peuvent être totales ou partielles. Un très grand nombre de follicules sont vidés, et ne renferment que des gamètes résiduels. L'arrangement lamellique des spermatozoïdes disparaît et la densité des follicules diminue, les ovocytes restant prennent une forme sphérique du moment que la pression dans les follicules diminue. On observe donc une réduction générale de la surface du manteau occupée par le tissu germinatif

Stade IIIC : (Restauration de la gonade), C'est le stade de redéveloppement, le renouvellement gamétogénétique a lieu à partir de ce stade. La bande qui correspond aux premiers stades gamétiques est apparente dans les follicules mâles. Chez les femelles, les jeunes ovocytes attachés au pourtour folliculaire sont abondants. Ce stade pourrait être confondu avec le stade II puisque dans le même follicule on trouve des gamètes pondus et des gamètes en développement. Cependant, quand le redéveloppement est maximal (comme dans le stade IIIA), le paquet de follicules n'occupe plus toute la surface disponible du manteau, alors le tissu conjonctif devient plus évident qu'avant la ponte (stade IIIB).

Stade IIID : (Arrêt de l'activité génitale et reconstitution des réserves), au cours de ce stade l'activité génitale s'arrête complètement. D'importants phénomènes ont lieu dans le manteau. Les follicules s'écroulent et dégénèrent. Les amoebocytes attaquent les gamètes non pondus. On observe souvent, dans la lumière, des follicules et des débris cellulaires. L'animal se retrouve de nouveau au stade de repos sexuel.

Quant à l'indice gonadique, il est déterminé tel qu'il a été proposé par Wilson et Seed (1974). En effet, les différents stades gamétogénètiques sont cotés comme suit :

Stade 0 = 1
Stade I et II = 2
Stade IIIA = 3
Stade IIIB et IIIC =2
Stade IIID = 1

Pour chaque échantillon, le nombre de moules de chaque stade est multiplié par la valeur numérique correspondant à ce stade. Les résultats obtenus sont additionnés et divisés par le nombre total des moules dans l'échantillon : c'est l'indice gonadique.

En général, une augmentation de l'indice gonadique indique la période du développement gamétogénétique, alors que sa diminution indique la ponte.

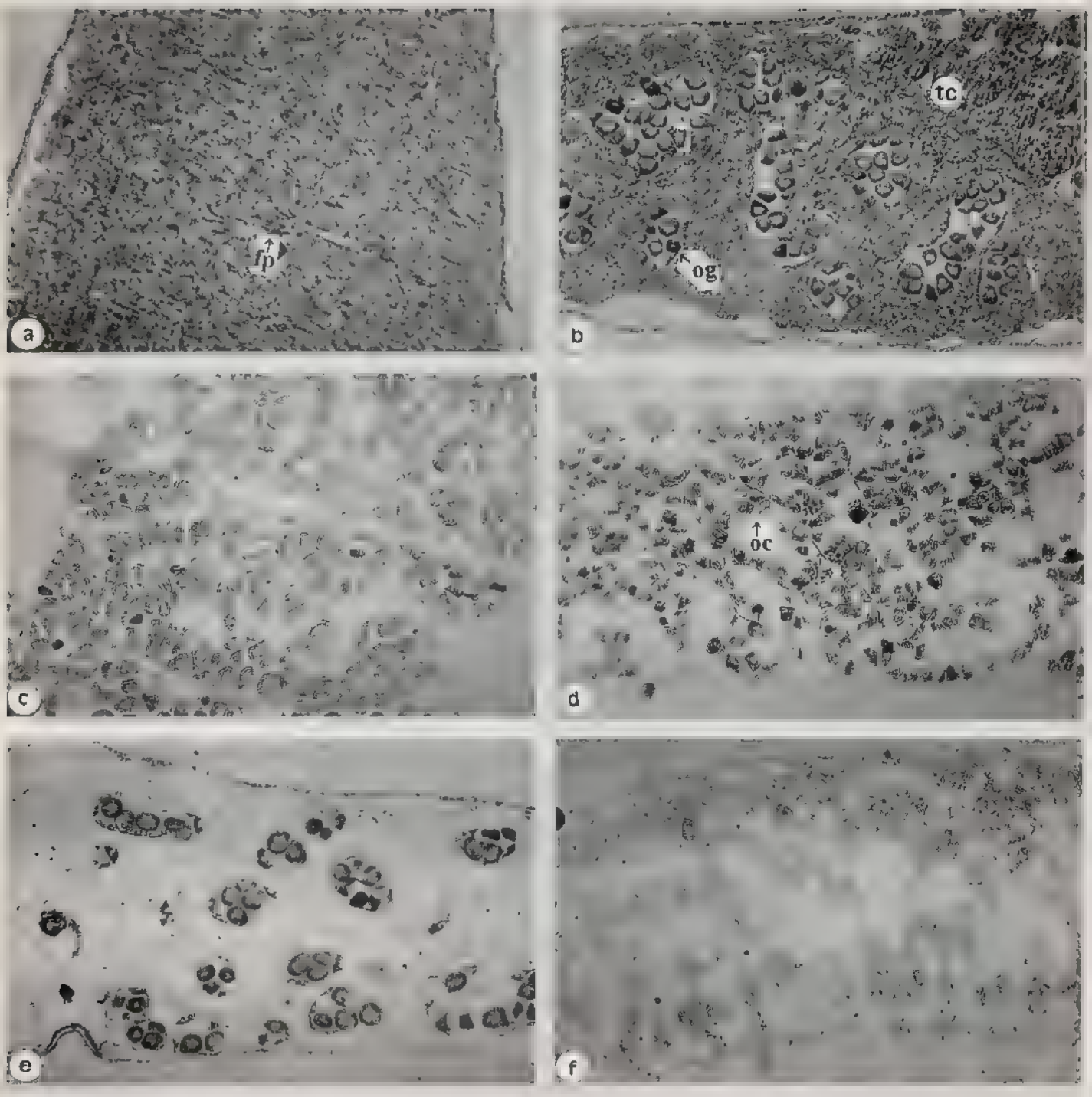


Figure 2. Différents stades du développement de la gonade femelle chez *Perna perna*. — a = Stade I : Reprise de l'activité génitale, b = Stade II . Gametogenèse, c = Stade IIIA : Maturité génitale, d = Stade IIIB : Emission des gamètes, e = Stade IIIC . Restructuration de la gonade, f = Stade IIID : Arrêt de l'activité génitale et reconstitution des réserves. — fp = follicule primaire, tc = tissu conjonctif, og = ovogonie et oc = ovocyte.

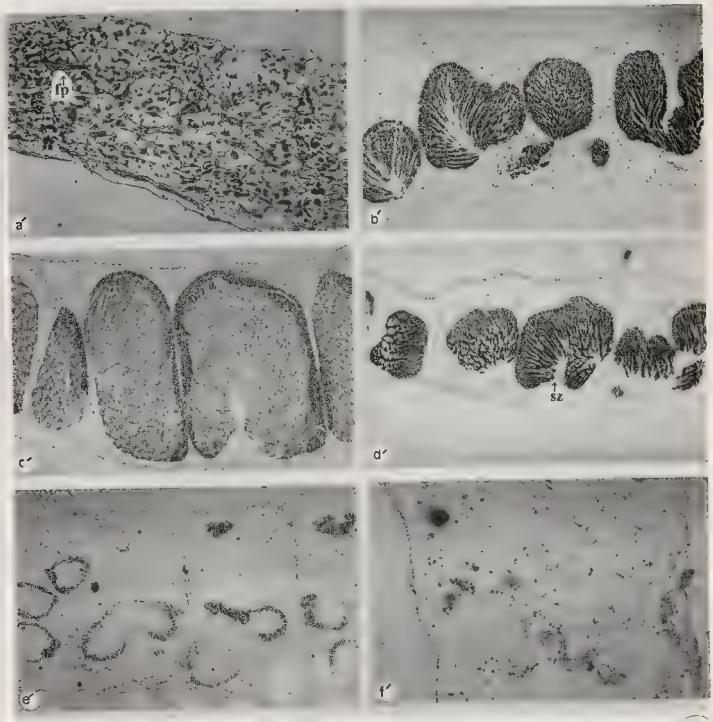


Figure 3. Différents stades du développement de la gonade mâle chez *Perna perna*. — a = Stade I : Reprise de l'activité génitale, b = Stade II . Gametogenèse, c = Stade IIIA : Maturité génitale, d = Stade IIIB . Emission des gamètes, e = Stade IIIC : Restructuration de la gonade, f = Stade IIID . Arrêt de l'activité génitale et reconstitution des réserves — fp = follicule primaire, tc = tissu conjonctif, et sz = spermatozoïde.

L'effort de reproduction est estimé grâce à l'indice pondéral gamétosomatique (IPG) Par cette voie indirecte, on peut estimer le poids sec sans cendre (PSSC) des gamètes émis ; la mesure a été faite par difference entre un maximum et un minimum successif du PSSC soit en faisant la somme de deux émissions proches (Parache, 1983). Le rapport entre l'amplitude de l'émission et le poids sec organique des tissus avant émission détermine l'I.P.G. exprimé en pourcentage.

$$I.P.G. = \frac{\text{PSSC (mg) des gamètes emis lors d'une émission complète}}{\text{PSSC (mg) de la totalité de la chair avant l'émission}}$$

Les individus de taille inférieure à 0,25 cm pour chaque espèce dans les deux stations sont dénombrés pour l'étude du recrutement.

Lors de chaque prélèvement, dans les deux stations, la température de l eau de mer est notée à la même heure et en vive eau.

RÉSULTATS

Variation de la température

La figure 4 donne les variations de ce paramètre durant la période d'étude, dans les deux stations. Les deux courbes présentent un profil saisonnier identique La valeur minimale (15 et 16,3 °C respectivement à Cap Ghir et Anza) est enregistrée au mois de janvier Par la suite, la température connaît une augmentation progressive jusqu'à une valeur maximale au mois de juin (21,8 et 22,7 °C respectivement à Cap Ghir et à Anza). Toutefois les valeurs enregistrées à Anza sont légèrement supérieures à celles du Cap Ghir.

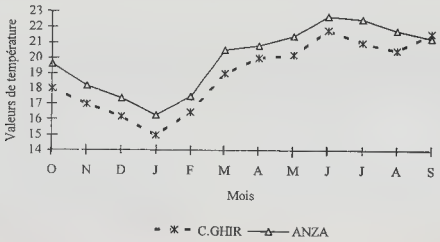


Figure 4. Variation de la température de l'eau de mer dans les deux stations.

Sex-ratio

Les résultats des observations macroscopiques et microscopiques de la gonade (Tableau 1) montrent que le sex-ratio est voisin de 1 : 1 pour les deux espèces au Cap Ghir, alors qu'à Anza le nombre de mâles est légèrement plus important pour les deux espèces.

Tableau 1. Sex ratio pour *Mytilus galloprovincialis* et *Perna perna* dans les deux stations étudiées

Stations	*Mytilus galloprovincialis*		*Perna perna*	
	observation macroscopique (mâle : femelle)	observation microscopique (mâle : femelle)	observation macroscopique (mâle : femelle)	observation microscopique (mâle : femelle)
Cap Ghir	49,33 : 50,67 %	53,78 : 46,21 %	48,21 : 51,79 %	55,12 : 44,47 %
Anza	57,46 : 42,54 %	56,58 : 43,42 %	56,37 : 43,65 %	57,53 : 42,46 %

Tableau 2. Distribution des stades gonadiques au cours de la période d'étude à Anza.

Dates	Stade 0		Stade 1		Stade 2		Stade 3A		Stade 3B		Stade 3C		Stade 3D	
	M.g.	*P.p.*	*M.g.*	*P.p.*	*M.g.*	*P.p.*	*M.g.*	*P.p.*	*M.g.*	*P.p.*	*M.g.*	*P.p*	*M.g.*	*P.p.*
oct-93			2	2	8	4			8	6		4		
nov-93					4		14	10	16	24	2	10		
déc-93					18	6	6	4		4		8		2
jan-94					4	10	16	8	4		2			
fév-94					4	2	14	20	2	4				
mar-94								14	20	10	16			
avr-94						4		4	12	6	12	12	10	
mai-94					6		2		4	2	8	14	2	6
jun-94			2			2	10	2	2		2	6	8	
jul-94					14	6		4	4	2	6	2	6	8
aoû-94	6		10		2	14	4	8						2
sep-94	6	4	6	4	8	16	4	16						

Tableau 3 Distribution des stades gonadiques au cours de la période d'étude, au Cap Ghir

Dates	Stade 0		Stade 1		Stade 2		Stade 3A		Stade 3B		Stade 3C		Stade 3D	
	M.g.	*P.p.*	*M.g.*	*P.p.*	*M.g.*	*P.p.*	*M.g.*	*P.p.*	*M.g.*	*P.p.*	*M.g.*	*P.p.*	*M.g.*	*P.p.*
oct-93				6	4	8	4	8	4		2			
nov-93					8	6	4	2	10	8	2	6		
déc-93					4	14	4	8	8	12	4	6		
jan-94					16	8	6	8	2	8				
fév-94					6	8	10	10	4	2		4		
mar-94						4		4	12	6	8	12		
avr-94							2	2	12	8	10	8	8	4
mai-94						2				8	14	10	8	10
jun-94						6	12	8	4	2	2	8	18	4
jul-94		6		4		2		4			10	4	16	4
aoû-94	8	8	12	8		8								
sep-94		4	14	8		6		2				2		2

Evolution de l'activité gonadique :

L'évolution saisonnière de l'activité gonadique chez les deux espèces (Tableaux 2 et 3) montre que le stade 0 (repos sexuel) et le stade I (reprise de l'activité génitale) ne se rencontrent que chez quelques individus entre juillet et septembre. Par ailleurs, les stades II et IIIA s'observent entre octobre et février. A partir de mars, le stade IIIB devient très fréquent, ce qui témoigne d'une ponte ou spermiation importante (principale). Plus tard, entre avril et juillet, on rencontre davantage les stades IIIC et IIID (les différents stades sont consignés dans les figures 2 et 3).

Indice gonadique

D'une manière générale, l'indice gonadique (Fig. 5) montre un profil saisonnier comparable chez les deux espèces dans les deux stations. Il augmente entre décembre et février, ce qui traduit une gamétogenèse active (stade I et II très fréquents). Il diminue entre février et mai indiquant la ponte ou spermiation principale (stade IIIB très fréquent). Entre mai et novembre, on assiste à des fluctuations caractérisant des périodes de restructuration de la gonade suivies de pontes supplémentaires. En effet, l'évolution saisonière de l'indice gonadique permet de déceler deux périodes de pontes facultatives chez les deux espèces : l'une en octobre-novembre au Cap Ghir, en novembre-décembre à Anza et l'autre en juin-juillet dans les deux stations.

En outre, cet indice n'atteint jamais la valeur 1, ce qui prouve que le repos sexuel n'affecte qu'un nombre limité d'individus à la fois. Les valeurs maximales : 2.5 au Cap Ghir et 2.7 à Anza montrent que tous les stades peuvent être rencontrés le long de l'année.

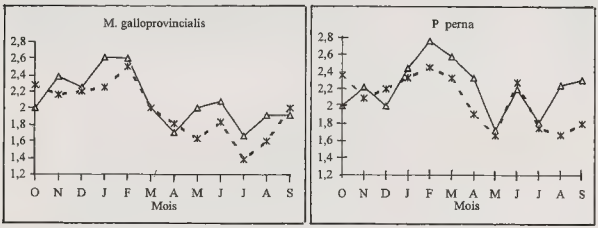


Figure 5. Variation de l'indice gonadique chez les deux espèces a Anza (—Δ—) et au Cap Ghir (--*--)

Effort de reproduction

Chez les deux espèces l'I.P.G. augmente avec la taille indépendamment de la station et de la saison (tableau 3). Par ailleurs, l'effort de reproduction est plus important entre février et juin. De plus, il est à noter que cet effort est un important à Anza qu'au Cap Ghir.

Recrutement

Le recrutement des naissains de taille inférieure à 2.5 mm a lieu durant toute l'année avec une intensité plus importante en décembre, mars et juin à Anza et en décembre, mai et juillet au Cap Ghir (Fig. 6). Les effectifs les plus importants sont enregistrés à Anza.

Tableau 4. Valeurs de l'effort de reproduction en % du poids sec chez les deux espèces et dans les deux stations.

Stations	Anza						Cap Ghir					
Tailles	30 mm		40 mm		50 mm		30 mm		40 mm		50 mm	
Espèce	*P. p.*	*M. g.*	*P p.*	*M. g*	*P. p*	*M. g.*	*P p.*	*M. g.*	*P. p.*	*M. g.*	*P. p.*	*M. g.*
oct-déc	5.1	15.1	10.6	26.3	21.6	33.9	1.4	4.5	3.7	13.7	5.4	20
déc-fév	27 6	10.9	5.2	20.6	16.8	27.3	17.3	16.3	15.1	13.3	35 5	26
fév-avr	31.9	39.2	52.7	56.2	68 5	66	42.5	35.4	36	40.6	54.3	52.4
avr-jun	38.9	26.8	52.5	34.4	67.5	39.8	14 7	20.8	57.9	25	60.9	39 3
jun-jul	5	2.4	25.9	8	38.9	12.1	2.7	5.5	6.7	18	10.2	27.4
jul-aoû	36.5	25.1	40.1	32.1	42.7	37	6.3	15.3	18.6	33.4	27.1	41.3

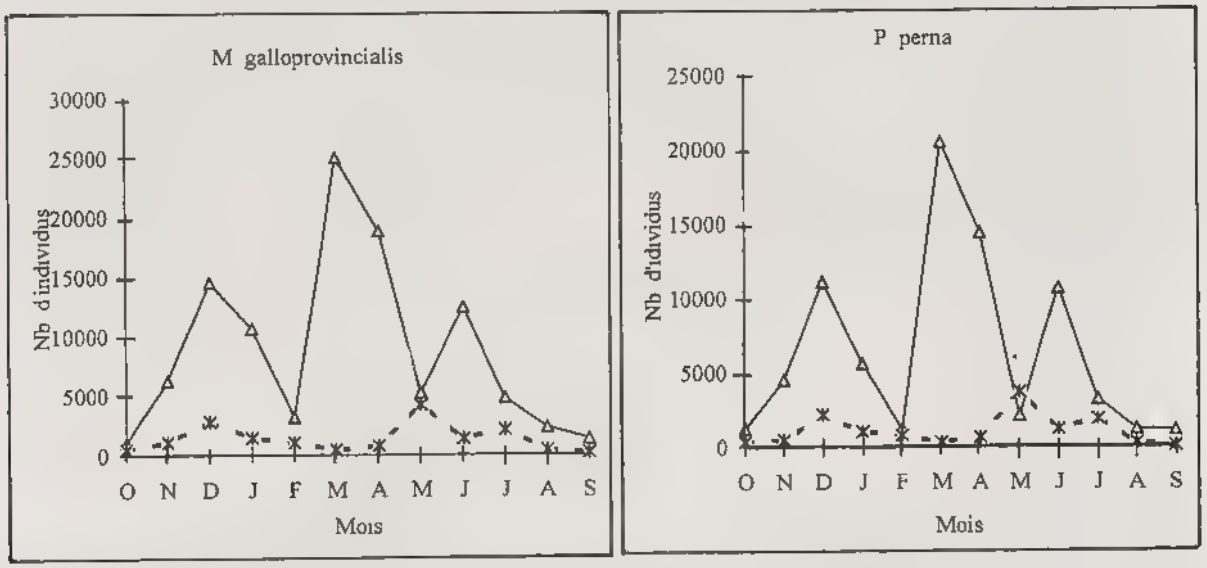


Figure 6 Variation de l'effectif des individus de taille inférieure à 2,5 mm chez les deux espèces à Anza (—Δ—) et au Cap Ghir (–*–).

DISCUSSION

Dans la littérature, le cycle de reproduction des moules présente d'importantes variations en fonction de la latitude. Celles-ci sont interprétées différemment par les auteurs. Pour Lubet *et al.* (1986), le facteur essentiel entre les limites thermiques compatibles à la reproduction de l'espèce est la nutrition qui permet d'assurer un bon équilibre entre les réserves et besoins énergétiques du cycle sexuel. Piters *et al* (1980) rapportent que l'émission principale des produits sexuels chez *M. edulis* se produit au mois d'avril lorsque la température augmente de 9 à 12 °C. D'autre part, Newell *et al.* (1982) expliquent les variations du cycle sexuel par les différences du flux d'énergie qui transitent à travers les populations étudiées.

Dans la baie d'Agadir, l'étude histologique montre que les deux espèces de moules *Mytilus galloprovincialis* et *Perna perna* présentent un cycle sexuel étalé sur toute l'année avec une période de repos sexuel très réduite n'affectant qu'un nombre limité d'individus à la fois (en juillet-aout) et trois périodes de ponte :

- la première, partielle, est observée en octobre-novembre au Cap Ghir, en novembre-décembre à Anza. Cette ponte coincide avec la chute de température dans les deux stations (fig. 4).

- la deuxième, principale, est enregistrée entre février et avril. Elle correspond avec l'augmentation de la température de l'eau de mer dans les deux stations.

- la troisième, facultative, a lieu en juin-Juillet lorsque la température de l'eau est maximale (22-23°C).

Des résultats similaires avec 3 périodes de ponte ont été notés par Lubet et Bourcart (1963), Shafee (1978) Benbrahim (1982) et Djediat et Boukroufa (1990), respectivement pour *M. galloprovincialis*, *P. viridis* (= *P. perna*), *P. picta* (= *P. perna*) et *P. perna*. Cependant les cycles sexuels rapportés par ces auteurs montrent un décalage par rapport au nôtre, avec des périodes de repos sexuel plus longues.

La période de repos sexuel, très réduite dans notre cas (Fig. 5; l'indice gonadique n'atteint jamais la valeur 1), pourrait s'expliquer par l'écart thermique moyen annuel qui est seulement de 6° C (Fig. 4). En effet, Lubet *et al.* (1981) montrent que pour *M. galloprovincialis*, il existe une corrélation positive très forte entre l'écart thermique moyen annuel et la durée moyenne de la période de repos sexuel. Ainsi, dans la Rade de Bizerte (Tunisie) où les moules subissent de très fortes températures estivales proches du TL50, la durée moyenne du repos sexuel est de 120 jours avec un écart thermique moyen de 16° C; dans l'Est du Tage (Portugal), cet écart est de 14° C et engendre un repos sexuel de 80 jours; à Arcachon (France), l'écart thermique de 12° C est à l'origine d'un repos sexuel de 55 jours; enfin, à Saint Vaast (France), la durée de la période du repos sexuel est réduite à 25 jours avec un écart thermique de 8° C.

Les travaux réalisés dans la région de Rabat (Maroc) ont montré que *M. galloprovincialis* préfère une température comprise entre 15,5 et 19° C pour pondre ses produits génitaux (Kaoubal, 1983) ; alors que *P. picta* à besoin d'une température optimale allant de 13,8 à 18,2° C pour le développement de la gonade et l'émission de gamètes (Benbrahim, 1982).

Par ailleurs, Lubet *et al.* (1986, 1987) montrent qu'il existe une "fenêtre thermique" à l'intérieur de laquelle les facteurs du milieu (valeur énergétique des apports nutritionnels, le temps d'émersion, etc.) auraient une grande répercussion sur la cinétique de la gamétogenèse. L'émission des gamètes serait déclenchée par une brusque modification de ces facteurs.

Dans le cas de la baie d'Agadir, la température de l'eau de mer varie entre 15 et 21,5° C au Cap Ghir et 16 et 22,5° C à Anza. Cette "fenêtre thermique" plus étroite serait à l'origine de la réduction de la période de repos sexuel chez les deux espèces et dans les deux stations. Les pontes répétées peuvent s'expliquer par la richesse de la baie d'Agadir en nourriture. En effet, cette région est caractérisée par la présence d'un upwelling intense qui provoque le remaniement des couches d'eaux et assure un apport alimentaire important. Le déphasage des activités génitales observé dans la station d'Anza peut être attribué soit à la température de l'eau de mer, soit aux différents polluants rejetés par les égouts.

L'effort de reproduction augmente avec la taille des individus. Il est plus important chez *P. perna* que chez *M. galloprovincialis*. De plus, il est plus élevé pour les animaux d'Anza. La valeur élevée enregistrée dans cette station peut être traduite comme étant une réaction biologique normale aux effets des polluants déversés dans cette station.

Toutefois, les résultats obtenus ne peuvent être comparés aux travaux antérieurs à cause de l'hétérogénéité de l'expression de cet effort: Peterson (1983) et Thompson (1984) l'expriment en fonction de l'âge des individus, Dare et Edwards (1975) l'expriment en fonction de la taille, alors que Shafee et Lucas (1980) l'expriment en combinant la variation du poids sec de la masse molle avec la taille ou l'âge des individus. Néanmoins, les résultats trouvés concordent avec ceux rapportés par Parache (1984) et par Naciri (1990), à savoir une augmentation de l'effort de reproduction avec la taille des individus.

Le recrutement des jeunes moules a lieu durant toute l'année avec trois périodes de forte intensité qui succèdent aux périodes de ponte. La même succession est rapportée par Boutbib et El Boudrari (1984) à Rabat (Maroc), par Abada-Boudjema et Mouéza (1981) à Alger (Algérie) et par Zaouali (1973) en Tunisie. Néanmoins, quelques différences existent quant aux nombres et dates de ces périodes de forte intensité de recrutement, qui sont liées aux périodes de ponte qui varient avec l'espèce et la situation géographique.

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient Monsieur le Professeur Pierre Lubet (Université de Caen) pour ses conseils et sa lecture critique de ce manuscrit. Ils remercient également le Ministère des Affaires Etrangères (France), l'IFS (Suède) et l'AUPELF (Canada) pour leur soutien financier.

BIBLIOGRAPHIE

Abada-Boudjema Y & Moueza M. 1981. Structure des populations d'une moulière naturelle en baie d'Alger; *Acta Oecologica, Oecol. gen.* **2** (2): 183-194.

Bayne B. L. 1976. *Marine mussels, their ecology and physiology* Cambridge University Press, Cambrige U. K., 356 p.

Benbrahim M. 1982 *La reproduction chez la moule africaine* Perna picta *(Born., 1780).* Mémoire de fin d'étude, I.A.V. Hassan II. 32 p.

Boutbib H. & El Boudrari L. 1984. *Evaluation de la production d'une population de moules africaines* Perna picta *(Born, 1780) dans la région de Témara (Rabat).* Mémoire de Fin d'étude, I A.V. Hassan II. 41 p.

Dare P.J. & Edwards D B. 1975. Seasonal changes in flesh weight and biochimical composition of mussels (*Mytilus edulis L.*) in the Conwy estuary. North Wales. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology,* **18** : 89-97.

Djediat C. & Boukroufa F. 1990. Reproduction comparée de *Perna perna* (L.) et de *Mytilus galloprovincialis* (Lmk) sur la côte algéroise. *Haliotis,* 10 : 115-127.

Kaoubai Z. 1983. *Contribution à l'étude de reproduction chez* M. galloprovincialis *(Lmk. 1819) de la région de Témara-Maroc. Mémoire de fin d'étude,* I.A.V. Hassan II. : 20 p.

Lubet P. 1959. Recherches sur le cycle sexuel et l'emmission des gamètes chez les Mytilidés et les Pectinidés. *Thèse de 3ème cycle,* Université de Paris. 159 p.

Lubet P. 1970. Cycles et rythmes sexuels chez les mollusques pélécypodes Influence de milieu et étude expérimentale. *Annales de l'Institut Michel Pacha,* 3: 24-50.

Lubet P. 1981 Action de la température sur le cycle des Lamellibranches. *Bulletin de la Société Zoologique de France,* **160** (3): 283-291.

Lubet P. & Bourcart C. 1963. Nouvelles observations sur la physiologie sexuelle de *Mytilus galloprovincialis* Lmk. *Comptes rendus des séances de la Société de Biologie,* Paris, **157** (2): 1966-68.

Lubet P. & Aloui N. 1987. Limites létales thermiques et action de la température sur la gamétogenèse et l'activité neurosecretrice chez la moule (*Mytilus edulis* et *Mytilus galloprovincialis).* Mollusques bivalves. *Haliotis,* **16** : 309-316.

Lubet P., Aloui N & Karnaukhov A.N. 1986. Etude expérimentale de l'action de la température sur le cycle de reproduction de *Mytilus galloprovincialis* Lmk Comparaison avec *Mytilus edulis* L. *Comptes rendus des séances de l'Académie des Sciences,* **303** (12) : 507-512.

Lubet P., Gmazane J.P. & Prunus G. 1981. Etude du cycle de reproduction de *Mytilus galloprovincialis* (Lmk) (Moll. Lamellibranche) à la limite de son aire de répartition. Comparaison avec les autres secteurs de cette aire. *Haliotis,* **11**: 157-170.

Naciri M. 1990. *Etude bio-écologique et démographique d'une population de* Mytilus galloprovincialis *Lmk sur la côte atlantique marocaine (Témara).* Thèse de 3ème cycle, Université Mohamed V. Faculté des Sciences de Rabat. 112 p.

Newell R.I.E., Hilbish T.J., Koehn R.K. & Newell C.J. 1982. Temporal variation in the reproductive cycle of *Mytilus edulis* L. (Bivalvïa, Mytilidae) from localities on the East coast of the USA. *Biological Bulletin*, **162**: 299-310.

Parache A. 1984 Variations de l'effet de reproduction en fonction de l'âge des individus dans une moulière naturelle de *M. galloprovincialis* Lmk en Méditerannée Nord occidentale. *Haliotis*, **14**: 25-31.

Peterson C.H. 1983. A concept of quantitative reproduction sentility application to the hard clam *Mercenaria mercenaria* (L). *Oecologia* (Berlin), **58**: 164-68.

Piters H., Kluytmans J.H., Zandee D.I. & Zurburg W. 1980. Seasonal variations in biochimical composition of *Mytilus edulis* with reference to energy metabolism and gametogenesis. *Netherlands Journal of Sea Research*, **14**(1) : 1-20.

Regragui A. 1991. *Introduction à l'étude écohydrodynamique de la baie de Dakhla.* Mémoire d'obtention du Grade de Maître en Océanologie, Université de Liège, Belgique, 78 p.

Shafee M.S. 1978. Variation in biochimical composition of green mussel *Perna viridis* L. of Ennore estuary, Madras. *Bulletin of the National Institute of Oceanography*, India. **2**: 101-104.

Shafee M.S. 1989. Reproduction of *Perna perna* (Mollusca Bivalvia) from the Atlantic coast of Morocco. *Marine Ecology Progress series*, **53**: 235-245.

Shafee M.S & Lucas A. 1980. Quantitative studies on the reproduction of black scallop, *Chlamys varia* L from Lanveoc area (Bay of Brest). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, **42**. 171-186.

Thompson R.J. 1984. Production, reproductive effort, reproductive value and reproduction cost in a population of the blue mussel *Mytilus edulis* from a sub arctic environment. *Marine Ecology Progress series*, **16**: 249-257.

Wilson J.H. & Seed R. 1974. Reproduction in *Mytilus galloprovincialis* Lmk. (Mollusca · Bivalvia) in Carlinh Ford Lough, Northern Ireland. *Irish Fisheries Investigation*, Series B (Marine), **15**. 30 p.

Zaouali J. 1973. Note sur la présence de *Perna perna* (L), *Mytilus africanus* (Chemnitz) dans la région de Bizerte (Tunisie). Etude quantitative du peuplement *Bulletin de l'Institut National Scientifique et Technique d'Océanographie et de Pêche*, Salamboo, **2** (4): 637-642.

Données préliminaires sur la variabilité génétique d'une population méditerranéenne de *Mytilus galloprovincialis*

Nejla BEJAOUI ALOUI[1], *Marcel LE PENNEC*[2], *Fadhila MAAMOURI*[3], *Amel HANACHI*[4] *et Dario MORAGA*[2]

ABSTRACT

Preliminary studies on the genetic variability of a mediteranean population of *Mytilus galloprovincialis*.

Researches were conducted on a mediterranean mussel population of *Mytilus galloprovincialis* in order to better know some aspects of its biology Electrophoretic analysis of eight enzyme encoding genes : Cap (EC 3 4 1 11.1), 6 Pgd (EC.1.1 1 44), Odh (EC 1.5 1 11) Aat (EC.2 6 1 1), Mdh (EC.1.1 1 37), Pgm (EC.5.4 2.2), Ak (EC 2.7 43) et Pgi (EC.5 3 1.9), were performed on individuals collected in the Bizerte lake (Tunisia) Results obtained were compared to those obtained with an atlantic population of *Mytilus sp.* collected in the bay of Brest (Brittany, France).

Allelic frequencies of loci studied and genotypic structure of both populations were estimated by analysis of subdivision parameters of Wright. Results obtained revealed a high genetic variability for the loci inside each population. Fst values, genetic distance of Nei and Nm are in favor of a weak genotypic divergence between mediterranean and atlantic populations It seems that an important genetic flow is capable to maintain some uniformity of the mussel populations.

RÉSUMÉ

Une étude a été réalisée sur une population de moules méditerranéennes *Mytilus galloprovincialis* afin de mieux connaître certains aspects de sa biologie. Dans ce but une analyse de gènes enzymatiques a été effectuée sur des individus d'une population tunisienne prélevés dans le lac de Bizerte. Les résultats obtenus ont été comparés à ceux provenant de l'analyse d'une population atlantique de *Mytilus sp.* prélevés en rade de Brest (Bretagne, France). Huit systèmes enzymatiques ont été analysés par électrophosèse enzymatique sur gel d'amidon . Cap (EC.3.4 1.11.1), 6 Pgd (EC.1.1.1.44), Odh (EC 1.5.1 11) Aat (EC.2.6.1.1), Mdh (EC 1 1 1.37), Pgm (EC.5.4.2 2), Ak (EC.2.7 43) et Pgi (EC.5.3.1.9) Trois n'ont pas été révélés : Aat, Cap et Ak. L'écart à la panmixie a été mis en évidence à partir des fréquences alléliques des loci étudiés et la structure génotypique des deux populations a été estimée par l'analyse des paramètres de subdivision de Wright Les résultats obtenus traduisent une variabilité génétique élevée pour les loci éprouvés au sein de chacune des populations. Les valeurs de Fst, de la distance génétique de Nei et de Nm sont en faveur d'une faible divergence des génotypes

[1] Institut National Agronomique de Tunisie, 43 Avenue Charles Nicolle, 1082 Tunis, Tunisie

[2] UMR CNRS 6539, Biologie Marine, Institut Universitaire Européen de la Mer, UBO, 29285 - Brest cedex, France.

[3] Laboratoire de Biologie Animale, Faculté des Sciences, Campus Universitaire - 1060 Tunis, Tunisie

[4] Laboratoire de Génétique, Faculté des Sciences, Campus Universitaire - 1060 de Tunis, Tunisie.

des populations méditéranéenne et atlantique. Il semble donc, d'après les résultats de cette étude préliminaire, qu'un flux génique important maintiendrait l'uniformité entre les populations de moules étudiées, malgré la distance géographique qui les sépare

INTRODUCTION

Chez certaines espèces de Mytilidés, comme *Mytilus edulis* (Linné, 1758) et *Mytilus galloprovincialis* (Lamarck, 1819), la morphologie de la coquille est fortement influencée par les facteurs du milieu . C'est pourquoi, aux méthodes utilisées pour établir la diagnose des espèces selon les caractéristiques morphologiques, biométriques et physiologiques, se sont substituées d'autres techniques basées sur le polymorphisme enzymatique (Wilkins, 1975). C'est ainsi que depuis une vingtaine d'années, la différenciation spécifique de *M. edulis* et de *M. galloprovincialis* est surtout abordée par l'étude de la variabilité génétique établie par électrophorèse enzymatique de populations issues de côtes européennes atlantiques et méditerranéennes (Wilkins, 1975 ; Gosling, 1984 ; Gosling et Mac Grath, 1990 ; Coustau *et al.*, 1991) et de quelques régions du Pacifique (Mac Donald *et al* , 1991). Enfin, plus récemment au moyen d'analyses cytogénétiques (Thiriot-Quiévreux, 1984) et d'études de la variation de l'ADN mitochondrial (Skibinski, 1985 ; Edwards et Skibinski, 1987 ; Gardner, 1992) de nouvelles données ont été obtenues permettant de conforter la diagnose de ces deux espèces.

A ce jour, à notre connaissance, les populations de Mytilidés des côtes africaines de la Méditerranée n'ont fait l'objet d'aucune étude enzymatique. En revanche, Abada Boudjema (1996) a récemment fourni quelques caractéristiques sur la biométrie et la reproduction de populations algériennes de *M. galloprovincialis* et de *Perna viridis* .

En Tunisie, *M galloprovincialis* est uniquement présente dans la région nord et sur les côtes du Cap-Bon (Lubet, 1973). Selon cet auteur ce mytilidé est rare sur le littoral de l'Afrique du Nord, sauf dans les zones portuaires (Oran, Alger, Bizerte, La Goulette) où on peut penser qu'il a été introduit par les bateaux. En outre il y a eu, avant 1970, l'introduction dans le lac de Bizerte d'un stock de moules originaires de Toulon (Gimazane, Univ. Caen, com. pers.).Cette espèce étant reconnue d'intérêt économique dans le Plan Directeur de l'Aquaculture en Tunisie (Medhioub, 1993), il nous a semblé intéressant de mieux connaître quelques aspects de sa biologie, notamment par l'interrogation de la génétique biochimique. Pour cela, nous proposons d'étudier une population de Tunisie et de la comparer à une population atlantique française, prélevée dans la rade de Brest, qui est considérée comme une zone d'hybridation entre *M. edulis* et *M. galloprovincialis* (Lubet, 1973, 1980; Coustau et *al.*, 1991). Cette comparaison se fera sur la base d'une analyse de quelques gènes enzymatiques permettant de caractériser chaque population et éventuellement de les différencier.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

La population tunisienne de *M. galloprovincialis* est issue du lac de Bizerte (Fig. 1). D'une superficie de 15 000 hectares, ce lac a une profondeur moyenne de 7 m et communique avec la mer Méditerranée par un canal long de 8 km. La salinité peut atteindre en période estivale 41‰. La température de l'eau est directement liée à celle de l'air et dépasse 29°C durant les mois chauds (juillet, août) de l'année.

Les échantillons de la population atlantique proviennent de la rade de Brest, du site des "Ducs d'Albe". La détermination systématique des échantillons récoltés, réalisée au Muséum National d'Histoire Naturelle de Paris montre qu'il s'agit d'une espèce hybride : *Mytilus* sp.(Métivier, com.pers.).

Les prélèvements ont été effectués, en France et en Tunisie, le 29 septembre 1995. Tous les individus ont une classe de taille de 50 mm. Les échantillons provenant du lac de Bizerte ont été transportés vivants au laboratoire de Biologie Marine à la Faculté des Sciences de Brest (France), où l'ensemble des manipulations a été réalisé.

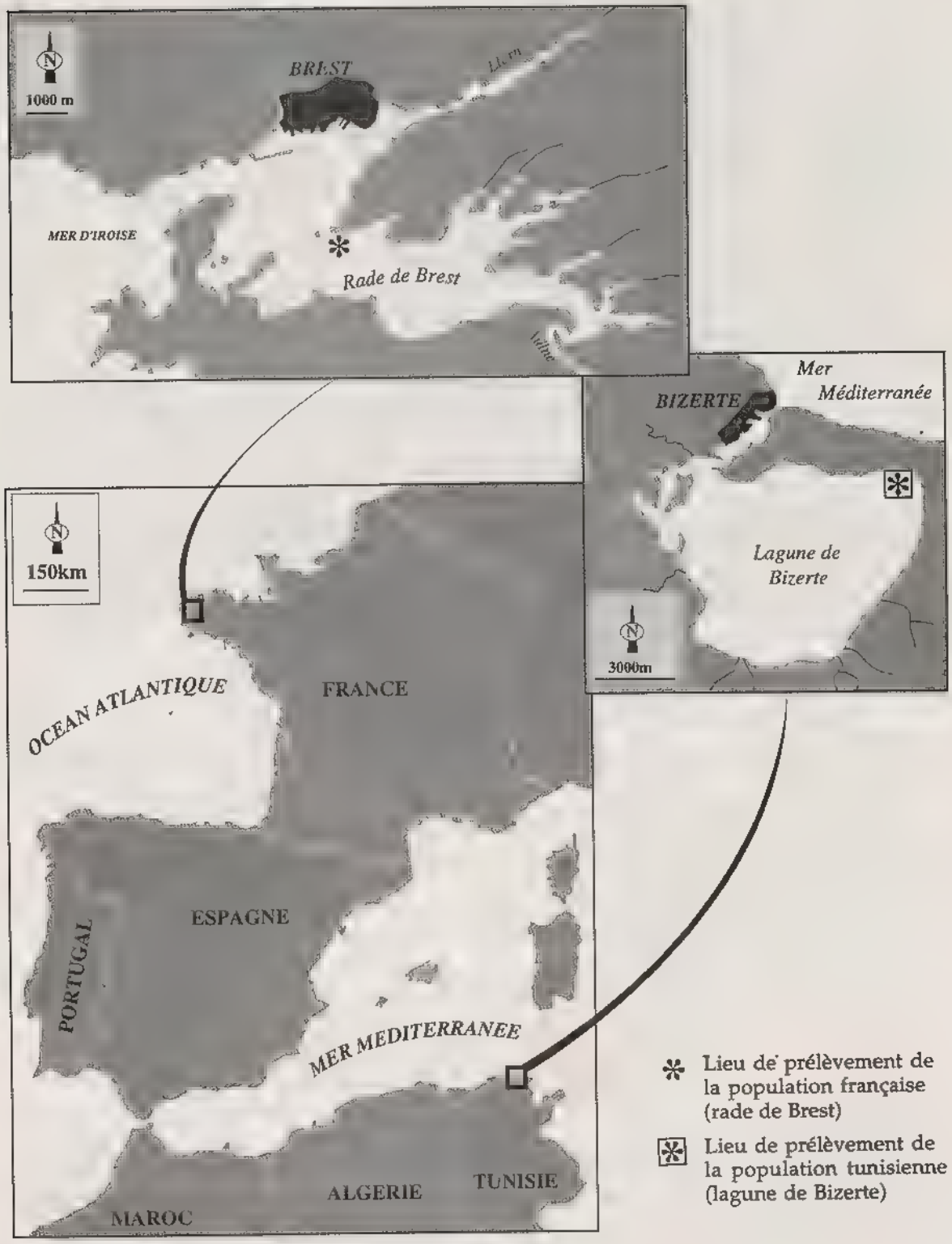


Figure 1. Situation géographique des populations étudiées.

Les muscles adducteurs et la glande digestive ont été prélevés séparément sur chaque individu et conservés à - 80° C jusqu'à l'extraction. Les tissus sont alors broyés dans un tampon d'extraction Tris 0,01M de pH = 6,8 , centrifugés à 10 000 g pendant 10 minutes à 4° C puis stockés à - 80° C.

L'analyse a porté sur :

- 95 individus de la population méditerranéenne tunisienne.
- 90 individus de la population atlantique française.

Une électrophorèse horizontale sur gel d'amidon à 11%, à partir d'amidon de pomme de terre, a été réalisée selon les techniques décrites par Pasteur *et al.* (1987).

L'analyse a porté sur 8 systèmes enzymatiques : la cytosol aminopeptidase : Cap (EC.3.4.11.1), la 6 phosphogluconate deshydrogénase : 6Pgd (EC.1 1.1.44), l'octopine deshydrogénase : Odh (EC.1.5.1.11), l'aspartate aminotransférase : Aat (EC 2.6.1.1), la malate deshydrogénase : Mdh (EC.1.1.1.37), la phosphoglucomutase : Pgm (EC.5.4.2.2.), l'adenylate kinase: Ak (EC.2.7.4.3) et la phosphoglucoisomérase : Pgi (EC.5.3.1.9).

Un test préalable sur une vingtaine d'échantillons nous a permis, pour chaque locus, de déterminer les marqueurs génétiques qui seront utilisés dans l'interprétation des zymogrammes. Ce test n'a révélé aucune différence génotypique entre les extraits du muscle adducteur et de la glande digestive des individus. Pour cette raison, nous nous limiterons pour l'ensemble de l'étude à des analyses électrophorétiques à partir d'extraits de muscles adducteurs uniquement.

L'écart à la panmixie a été testé au moyen du test non paramétrique du χ^2 et les fréquences alléliques ont permis le calcul de la divergence et de l'identité génétique selon Nei (1972) .

La structure génotypique des deux populations a été estimée par l'analyse des paramètres de subdivision de Wright : F_{ST}, F_{IS} et F_{IT} (Wright, 1951; 1978) qui représentent en fait des variances des fréquences alléliques (Weir et Cockerham, 1984) :

F_{ST} est un paramètre permettant de mesurer les divergences génétiques entre les populations, au même titre que l'indice de Nei, mais qu'on ne peut tester ;

F_{IS} est utilisé pour détecter la déficience en hétérozygotes à l'intérieur d'une même population;

F_{IT} est un paramètre de différenciation de chacune des populations par rapport au total des populations étudiées.

Ces paramètres sont liés par la formule :

$$(1 - F_{IT}) = (1 - F_{ST}) (1- F_{IS}) \qquad \text{(Nei, 1977)}$$

La signification de la déviation de F_{IS} par rapport à l'équilibre de Hardy-Weinberg a été estimée par un test χ^2 selon Kartavtsev et Zaslavskaya (1983).

Pour estimer les flux géniques existant entre les populations méditerranéenne et atlantique, le nombre de migrants efficaces a été calculé à partir de l'équation suivante :

$$F_{ST} = 1/ (1+ 4Nm) \qquad \text{(Wright, 1969 ; Whitlock et Mc Cauley, 1990)}$$

L'ensemble des données a été analysé par le logiciel BIOSYS (Swofford et Selander, 1989).

RÉSULTATS

Sur les 8 systèmes enzymatiques étudiés, trois n'ont pas été révélés. Il s'agit de Aat, Cap et Ak.

Le locus Mdh s'est montré monomorphe pour les 2 populations. Les fréquences alléliques observées pour les autres loci ainsi que les résultats du test χ^2 sont donnés dans le tableau 1.

Tableau 1. Fréquences alléliques et résultats du test de χ^2. — All . allèles, N : nombre d'individus par échantillon; ddl : nombre de degrés de liberté; p : Probabilité

		Population tunisienne *M. galloprovincialis*				**Population française** *Mytilus* sp.			
Locus	allèles	Fréquences	Test χ^2			Fréquences	Test χ^2		
Pgi	(N)	(93)				(90)			
	110	0,000				0,011			
	105	0,151				0,256			
	100	0,806				0,672			
	97	0,032				0,000			
	95	0,011				0,044			
	90	0,000				0,017			
			χ^2	ddl	P		χ^2	ddl	P
			59,75	6	0,000		17,91	10	0,056
6Pgd	(N)	(95)				(88)			
	110	0,032				0,017			
	105	0,005				0,000			
	100	0,942				0,972			
	95	0,021				0,011			
			χ^2	ddl	P		χ^2	ddl	P
			30,84	6	0,000		57,67	3	0,000
Pgm	(N)	(95)				(86)			
	110	0,016				0,006			
	105	0,284				0,186			
	100	0,568				0,669			
	95	0,084				0,134			
	90	0,047				0,006			
			χ^2	ddl	P		χ^2	ddl	P
			24,18	10	0,007		27,76	10	0,002
Odh	(N)	(92)				(81)			
	100	0,739				0,451			
	95	0,217				0,321			
	90	0,043				0,228			
			χ^2	ddl	P		χ^2	ddl	P
			32,58	3	0,000		46,97	3	0,000

La distribution des génotypes est significativement différente, au seuil de 5 % selon les conditions définies par la loi de Hardy-Weinberg, sauf pour le locus Pgi de la population atlantique ($P = 0,056$; $\chi^2 = 17,91$ pour 10 ddl).

La présence d'allèles à fréquence nulle sur un échantillonnage d'environ 90 individus permet de mettre en évidence des allèles spécifiques à l'une ou l'autre des populations. Il s'agit pour la population méditerranéenne des allèles 97 du locus Pgi et 105 du locus 6 Pgd et pour la population atlantique des allèles 90 et 110 du locus Pgi.

Les allèles communs aux 2 populations présentent des fréquences différentes quel que soit le locus considéré.

La divergence intra et interpopulations a été mesurée au moyen des paramètres statistiques F de Wright.

Tableau 2. Paramètres de variabilité génétique au sein de chaque population pour les quatre loci étudiés. **: hautement significatif au seuil de 1% ; *: significatif au seuil de 5%; ns: non significatif

	Population tunisienne (*M. galloprovincialis*)		**Population française (*Mytilus* sp.)**	
Nombre moyen d'échantillons par locus	94,0 (± 0,6)		87,0 (± 1,7)	
Nombre moyen d'allèles par locus	3,4 (± 0,7)		3,4 (± 0,7)	
LOCUS	F_{IS}	test	F_{IS}	test
Pgi	0,373	**	0,260	**
6 Pgd	0,051	ns	0,387	**
Pgm	0,157	*	0,256	**
Odh	0,328	**	0,538	**

La valeur du test χ^2 pour le paramètre F_{IS} montre qu'il existe un écart significatif à la panmixie dans le sens d'un déficit en hérérozygotes pour l'ensemble des loci sauf pour le locus 6 Pgd de la population méditerranéenne.

Le tableau 3 exprime l'analyse globale des 2 populations confondues des valeurs de F_{IS}, F_{IT}, et F_{ST}, locus par locus.

Tableau 3 Analyse globale des valeurs de F_{IS}, F_{IT}, et F_{ST} des 2 populations confondues, locus par locus, et en moyenne pour l'ensemble des loci. * : significatif au seuil de 5% ns : non significatif

Locus	**F_{IS}**	**test**	**F_{IT}**	**test**	**F_{ST}**	**test**
Pgi	0,306	*	0,319	*	0,019	ns
6 Pgd	0,163	*	0,166	*	0,004	ns
Pgm	0,203	*	0,211	*	0,011	ns
Odh	0,457	*	0,488	*	0,058	*
Moyenne	0,313	*	0,333	*	0,029	*

Selon les loci, F_{IS} varie de 0,163 à 0,457 (moyenne 0,313), F_{IT} de 0,166 à 0,488 (moyenne 0,333) et F_{ST} de 0,004 à 0,058 (moyenne 0,029).

Les valeurs de F_{IS}, F_{IT} et F_{ST} ont été testées selon Brown (1970). Les résultats montrent que les moyennes de ces paramètres sont statistiquement significatives au seuil de 5%.

DISCUSSION

Notre étude a révélé une variabilité génétique élevée, pour les loci éprouvés, au sein de chacune des populations de moules méditerranéenne et atlantique.Vu le nombre d'alléles par locus enregistré pour les loci analysés, il existe une grande variabilité, caractérisée par une déviation par rapport à l'équilibre panmictique de Hardy-Weinberg.

La déficience en hétérozygotes est un phénomène signalé chez de nombreux mollusques marins (Zouros et Foltz, 1984), et en particulier chez les Mytilidés (Wilkins, 1975; Fujio *et al.*, 1983; Gosling et Wilkins, 1985; Gosling et Mac Grath, 1990). Le déficit en hétérozygotes observé dans cette étude est particulièrement élevé. Il dépasse en effet les limites indiquées par Fujio *et al.* (1983) dans une étude portant sur 25 espèces de mollusques marins dont 23 bivalves. Ce déficit peut être attribué, dans le cas des mytilidés, à deux causes essentielles (Golsing et Mac Grath, 1990) :

- La mortalité sélective des hétérozygotes ;
- L'effet "Wahlund".

L'effet Wahlund est observé dans un échantillon composé d'individus appartenant à des ensembles entre lesquels les croisements ne sont pas aléatoires parce qu'ils proviennent par exemple de lieux géographiques suffisamment éloignés pour entraver le libre échange des gènes. Cet échantillon présente souvent des écarts à l'équilibre panmictique dans le sens d'un déficit en hétérozygotes si les fréquences alléliques sont différentes d'un lieu à l'autre (Pasteur *et al*, 1987). Cet effet ne peut en aucun cas être exclu chez les moules en cas de déficience en hétérozygotes (Gosling et Wilkins, 1985).

Les larves de Mytilidés, planctoniques pendant 2 à 3 semaines, peuvent se disperser sur de longues distances en raison de la courantologie qui alimente aussi bien les côtes atlantiques française que, à un degré certes moindre, les eaux du lac de Bizerte .

Les valeurs élevées de F_{IS}, la déficience en hétérozygotes ainsi que les différences observées au niveau des fréquences alléliques sont autant d'éléments en faveur d'une importante diversité génétique, et qui nous laisseraient penser que l'une et l'autre de nos populations sont soumises à cet effet.

Ce sont surtout les locus Pgi et Odh qui contribuent fortement à la variabilité de la population méditerranéenne (F_{IS} respectivement de 0,373 et 0,328) alors que l'ensemble des loci et surtout Odh participent à celle de la population atlantique (tab.2).

Les allèles spécifiques observés caractérisent chacune de nos populations par rapport à l'autre. Les allèles rares (fréquence < 0,010) sont dus, comme le souligne Wilkins (1975), à l'influence de la répartition géographique ou à l'adaptation au milieu de vie.

Les moyennes de F_{IS} et F_{ST} globales (tableau 3) que nous obtenons sont respectivement de 0,313 et 0,029. La valeur de F_{ST} en ce qui concerne nos populations est faible. En effet, pour l'ensemble des populations, mise à part la population humaine, F_{ST} est comprise entre 0,024 et 0,174 (Selander et Kaufman, 1975 in Kartavtsev et Zaslavskaya, 1983). Ces valeurs montrent une variabilité génétique à l'intérieur de chacune des deux populations beaucoup plus importante que la variabilité interpopulationnelle On relève ici aussi le rôle de l'Odh dont la forte valeur de F_{ST} (0,058), statistiquement significative au seuil de 5%, contribue de façon déterminante dans la moyenne de F_{ST} pour l'ensemble des loci.

La valeur de la distance de Nei D égale à 0,034 et celle de l'identité génétique qui est égale à 0,967 confirment la faible divergence génétique des populations atlantique et méditerranéenne.

Le calcul du nombre de migrants efficaces peut mettre en cause l'importance du flux génique dans ce genre de situation. Dans le cas de la présente étude, Nm est égal à 8,37 Une valeur de Nm

égale à 4 est considérée comme un seuil minimal pour impliquer le flux génique dans une faible différenciation génétique entre des populations de moustiques (Chevillon *et al.*,1995). Pour une valeur de Nm > 7 les flux géniques sont tellement importants qu'ils empêchent l'action de la dérive génétique (Chevillon *et al.*,1995).

Il existe donc un flux génique important qui limite l'effet de site et qui maintiendrait l'uniformité entre les populations de moules méditerranéenne et atlantique malgré l'éloignement géographique des lieux d'où elles proviennent. Ce flux génique peut expliquer le brassage génétique observé entre *M. edulis* et *M. galloprovincialis* et les hybrides sur les côtes européennes (Coustau et *al*, 1991 ; Gosling, 1984 ; Bates et Innes, 1995). Celui-ci peut toucher, d'après Gosling (1994), des populations de Mytilidés distantes d'environ 1500 km. Par ailleurs il ne faut pas oublier qu'il existe des communications maritimes importantes entre des ports atlantiques français (dont Brest), espagnols et portugais, des ports méditerranéens français (dont Toulon) et espagnol et le port de Bizerte. Dès lors les transferts des espèces de bivalves épigées, vivant fixées par un byssus sur divers types de substrats, peuvent se faire aisément par les coques des bateaux.

Gosling (1984), dans son étude sur plusieurs populations de *Mytilus*, relève que les échantillons de *M. edulis* ne présentent pas, contrairement à ceux des populations de *M. galloprovincialis* et de moules hybrides, de déficience significative en hétérozygotes pour le locus Pgi. D'après les valeurs de Fis obtenues (tabl. 2) un déficit en hétérozygotes pour le locus Pgi est moins accentué pour la population atlantique que pour la population méditerranéenne, puisqu'il est respectivement de 0,260 et 0,373. Bien que ces populations soient génétiquement proches, on peut penser que le locus Pgi marque une différence entre les deux populations et qu'il met en évidence l'hybridation de la population française avec *Mytilus edulis* sans qu'aucun élément ne puisse nous permettre d'en dire autant pour la population tunisienne.

Par ailleurs, les fréquences alléliques du locus Pgi que nous avons trouvé sont comparables à celles de la population de *M. galloprovincialis* étudiée dans la région de Cannes (Coustau *et al*, 1991) En ce qui concerne ce locus la population tunisienne est donc plus proche de la population française méditerranéenne (région de Cannes) que de la population atlantique, ce qui est logique puisqu'il s'agit de la même espèce. Ceci est en faveur du rôle du flux génique invoqué dans le rapprochement génétique entre les 2 populations de moules. Il agirait de façon différentielle selon les loci.

En définitive, on peut considérer que les deux populations étudiées sont génétiquement proches. Une analyse du même type sur une population intermédiaire entre Bizerte et Brest, de la côte espagnole de Galice par exemple, aurait fourni des résultats, confirmant ou infirmant notre hypothèse concernant l'existence d'un flux génique important entre ces deux populations de Mytilidés. Malheureusement ceci n'a pas pu être réalisé. L'important flux génique observé pourrait être expliqué par les caractéristiques écologiques propres à notre site d'étude. En effet, les moules de la population tunisienne étudiée vivent dans un milieu paralique tel que défini par Guelorget et Perthuisot (1983). Un tel milieu est caractérisé , comme le soulignent Jarne *et al.* (1988) dans leur étude sur les palourdes, par un temps de renouvellement des eaux suffisamment court, environ un mois pour le lac de Bizerte, permettant ainsi aux larves, qui sont planctoniques pendant plusieurs semaines, d'échapper à leur lac d'origine .

La courantologie de surface du lac de Bizerte, par son jeu antagoniste régulier de courant entrant et sortant (Frisoni *et al.*, 1986), associée à celle du bassin méditerranéen, favorise tout à fait les échanges entre le lac et son milieu environnant, aussi bien dans un sens que dans l'autre.

BIBLIOGRAPHIE

Abada-Boudjema Y M , 1996. Cinétique, croissance, production et composition biochimique de 2 bivalves mytilidés *Perna perna* (L.) et *Mytilus galloprovincialis* (Lmk.) du littoral algérois. *Thèse de doctorat, Muséum National d'Histoire Naturelle*, Paris.

Bates J.A. & Innes D.J., 1995 Genetic variation among populations of *Mytilus spp.* in eastern Newfoundland. *Marine Biology*, **124** : 417-424.

Brown A.H.D.,1970. The estimation of Wright's fixation index from genotypic frequencies. *Genetica*, **41** : 399-406

Chevillon C., Addis, G. Raymond M. & Marchi, A., 1995 Population structure in mediterranean islands and risk of genetic invasion in *Culex pipiens* L. (Diptera · Culicidae). *Biological Journal of the Linnean Society*, **55** : 329-343.

Coustau C., Renaud, F & Delay B., 1991. Genetic characterization of the hybridization between *Mytilus edulis* and *Mytilus galloprovincialis* on the atlantic coast of France . *Marine Biology*, **111** : 87-93.

Edwards C A. & Skibinski D.O.F., 1987. Genetic variation of mitochondrial DNA in mussels (*Mytilus edulis* and *Mytilus galloprovincialis*) populations from South West England and South Wales. *Marine Biology*, **94** : 547-556.

Frisoni G.F., Guelorget O. & Perthuisot J.P., 1986. Evaluations des potentialités aquacoles du lac de Bizerte. *FAO/MEDRAP*, Tunis- 42 p.

Fujio Y., Yamanaka R. & Smith P., 1983. Genetic variation in marine molluscs. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, **49**(12) : 1809-1817.

Gardner J.P.A., 1992. *Mytilus galloprovincialis* (Bivalva Mollusca) The taxonomic status of the mediterranean mussel. *Ophelia*, **35** (3) : 219-243.

Gosling E.M., 1984 The systematic status of *Mytilus galloprovincialis* in western Europe: a review. *Malacologia*, **25**(2) : 551-568.

Gosling E.M. & Wilkins N., 1985. Genetics of settling cohorts of *Mytilus edulis*: preliminary observations *Aquaculture*, **44** : 115-123.

Gosling E.M. & Mac Grath D , 1990. Genetic variability in exposed shore mussels *Mytilus spp* along an environmental gradient. *Marine Biology*, 104 : 413-418.

Gosling E.M., 1994. Speciation and wide-scale genetic differenciation *Genetics and Evolution of Aquatic Organisms*.: 1-13.

Guelorget O. & Perthuisot J.P., 1983. Le domaine paralique : expressions géologiques, biologiques et économiques du confinement. *Travaux du Laboratoire de Géologie*, ENS,. Paris, **16** : 136 p.

Jarne P , Berrebi P. & Guelorget O., 1988. Variabilité génétique et morphométrique de 5 populations de la palourde *Ruditapes decussatus* (Mollusque Bivalve). *Oceanologica Acta*, **11**(4): 401-408.

Kartavtsev Y. & Zaslavskaya N., 1983 Allozyme polymorphism in a population of the common mussel *Mytilus edulis* (Mytilidae) from the sea of Japan. *Marine Biology Letters*, **4** : 163-172.

Lubet P., 1959. Recherches sur le cycle sexuel et l'émission des gamètes chez les Mytilidés et les Pectinidés (Mollusques Bivalves). *Revue des travaux de l'Institut des Pêches Maritimes*, **23** : 387-542.

Lubet P , 1973. Exposé synoptique des données biologiques sur la moule *Mytilus galloprovincialis* (Lmk, 1819) *Synopsis FAO sur les pêches*, n°88

Lubet P., Prunus G., Masson M. & Bucaille D., 1980. Recherches expérimentales sur l'hybridation de *Mytilus edulis* L. et *Mytilus galloprovincialis* Lmk. (Mollusques Lamellibranches). *Taxonomie* : 87-98

Mac Donald J.H., Seed R. & Koehn R.K., 1991. Allozymes and morphometric characters of three species of *Mytilus* in the Northern and Southern hemispheres. *Marine Biology*, 111: 323-333.

Medhioub M N., 1993. La conchyliculture en Tunisie. Projet Tunis 192/002. *Ministère de l'Agriculture. Direction générale de la pêche et de l'aquaculture : PNUD/FAO* : 1-83.

Nei M , 1972. Genetic distance between populations. *American Naturalist*, **106** : 283-292.

Nei M , 1977 F-Statistics and analysis of gene diversity in subdivided populations. *Annales of Human genetic*, **41**, 225-233.

Pasteur N., Pasteur G., Bonhomme F., Catalan J & Britton-Davidian J., 1987. Manuel technique de génétique par électrophorèse des protéines. *Lavoisier ed.*, Paris, 217p

Skibinski D O.F , 1985. Mitochondrial DNA variation in *Mytilus edulis* L and padstow mussel *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, **92** : 251-258.

Swofford D.L. & Selander R.B., 1989 BIOSYS-1: a computer program for the analysis of allelic variation in population genetics and biochimical systématics. Release 1-7, University of Illinois, Urbana, Il.

Thiriot-Quievreux C., 1984. Chromosome analysis of three species of *Mytilus* (Bivalva; Mytilidae). *Marine Biology Letters*, 5 : 265-273.

Weir B.S. & Cockerham C C., 1984. Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution*, **38** : 1358-1370

Whitlock C.M. & Mac Cauley D.E., 1990. Some population genetic consequences of colony formation and extinction : genetic correlations within founding groups. *Evolution*, **44** : 1717-1724.

Wilkins N.P., 1975. Genetic variability in marine bivalvia : implications and applications in molluscan mariculture *10th European Symposium on Marine Biology*, Ostend, Belgium, 1975 - vol 1 : 549-563.

Wright S., 1951. The genetical structure of populations. *Annals of Genetics*, **15** : 323-354.

Wright S , 1965. The interpretation of populations structure by F-statistics with special regard to systems of mating. *Evolution*, **19** : 395-420.

Wright S., 1969. *The theory of gene frequencies.* University Chicago Press, Chicago; 290 p

Wright S., 1978. *Evolution and the genetics of populations, vol 4 · Variability within and among natural populations. University of Chicago Press, Chicago.*

Zouros E. & Foltz D.W., 1984. Possible explanations of heterozygote deficiency in bivalve molluscs. *Malacologia*, **25** : 583-591.

Shallow water marine gastropods endemic to Western Australia

Fred E. WELLS [1]

ABSTRACT

The shallow water marine biota of the 12,000 km long Western Australian coastline can be divided into three biogeographical groups: tropical, temperate and endemic to Western Australia. The distributions of 1263 species of gastropods are analyzed: 854 (67.6%) are tropical, 280 (22.2%) are temperate, and 129 (10.2%) are endemic. Endemic species are concentrated on the west coast of the state, in a faunal overlap zone between the tropical north coast and the temperate south coast. Endemic species occur in 46 of 96 families examined. There was is no apparent increase in endemicity in families which lack a planktonic veliger stage. The proportion (10.2%) of endemic species is considered to be a maximal estimate as 57 species have been described since 1970. Some of these may later be synonymized with previously described species found outside Western Australia, or their ranges may be extended beyond WA. No substantial data are available on the levels of endemicity in other molluscan classes, but all are known to have endemic taxa.

RÉSUMÉ

Gastéropodes marins littoraux endémiques d'Australie Occidentale

Les faunes et flores présentes en eau peu profonde le long des 12 000 km de côtes de l'Australie Occidentale peuvent être divisées en trois groupes biogéographiques : tropical, tempéré et endémique de l'Australie Occidentale. La distribution de 1263 espèces de gastéropodes est analysée: 854 (67,6%) sont tropicales, 280 (22,2%) sont temperées, et 129 (10,2%) sont endémiques. Il y a des espèces endémiques dans 46 des 96 familles examinées. Il ne semble pas que le taux d'endémisme soit plus élevé dans les familles ne possédant pas de stade larvaire planctonique. La proportion (10,2%) d'espèces endémiques est considérée comme une hypothèse haute, dans la mesure où 57 espèces ont été décrites après 1970, et où certaines pourraient plus tard être mises en synonymie avec des espèces décrites ailleurs, ou voir leur distribution étendue au delà de l'Australie Occidentale. Il n'y a pas de données consistantes sur les taux d'endémismes pour les autres classes de Mollusques, mais on connaît pour toutes des taxa endémiques.

INTRODUCTION

The state of Western Australia occupies the western third of the continent, with a land area of 2.5 million square kilometres and a coastline of over 12,000 kilometres which can be divided into three components. The north coast, extending northeast from North West Cape has a tropical marine biota which is contunuous with the remainder of northern Australia as far as the southern end of the Great Barrier Reef. The biota also extends into the tropical Indo-Pacific. There are no

[1] Western Australian Museum, Perth 6000 Western Australia

major distributional boundaries for molluscs on the north coast, with most reaching as far south as North West Cape The south coast, from Cape Leeuwin east, has a biota continuous with the remainder of southern Australia to New South Wales. There are no major barriers to mollusc distribution on the south coast, with most species reaching Cape Leeuwin. The west coast of the state, between Cape Leeuwin in the south and North West Cape in the north is a region of biogeographical overlap. Progressing northwards along this section of the coast, temperate species become less common and tropical forms increase (Wilson and Gillett, 1971; Wilson and Stevenson, 1977; Wells, 1980; Wilson and Allen, 1987; Morgan and Wells, 1991), with major distributional limits occurring in several areas. Superimposed on this combination of tropical and temperate species is a small portion of the biota which is endemic to the state. The proportion varies considerably between major taxonomic groups: about 10% for molluscs (Wells, 1980); 5% for fish (Hutchins, 1994); and 20% for shallow water asteroids (Marsh, 1976).

While the general distributional patterns are known for several groups, including molluscs, there is very little detailed information available The present paper examines the shallow water marine molluscs endemic to Western Australia, and emphasizes gastropods, which constitute the best known group.

MATERIALS AND METHODS

The recent publication of two volumes on Australian prosobranch gastropods (Wilson, 1993; 1994) provides the most comprehensive data set on marine mollusc distribution in Western Australia. Distribution records of all species recorded in the books were examined for this paper. Species occurring in Western Australia were categorized as having tropical, temperate or endemic distributions Information on prosobranchs was supplemented by distributional data on recently revised genera (Wells, 1990, 1991; 1993). To avoid complications with a poorly known deepwater fauna on the North West Shelf (Kosuge, 1985) only species which have at least part of their range in the upper 50 m of the water column are included. Ashmore Reef and Cartier Island are listed by Wilson (1993; 1994) as being part of the Northern Territory as they are administered through Commonwealth government offices in Darwin. Since these localities are north of Western Australia they are considered to be part of Western Australia for the purposes of this paper. Records stated as being questionable were ignored as were circumaustralian species unless they were also tropical. Data for opisthobranchs were obtained from Wells and Bryce (1993) and do not include planktonic species or those thought to have been transported into Western Australia through shipping movements

RESULTS

A total of 1263 shallow water marine gastropods are covered by the survey reported here. Eight hundred fifty-four (67.6%) are tropical species, 280 (22.2% temperate) and 129 (10.2%) are endemic to Western Australia (Table 1). Tropical species are thus slightly over 3 times as diverse as temperate species, and over 6.5 times as numerous as WA endemics. The differences between proportions of endemic species among the prosobranchs (10 5%) and opisthobranchs (8.2%) are relatively minor. Endemic species occur in all three major coastal areas of Western Australia (Table 2), but are more common on the west coast of the state, where just over half of the records occur. The concentration on the west coast is statistically significant (χ^2 test, $p<0.05$).

Endemic species are found in a wide range of families, 46 of the 96 examined in the study (Table 3). A substantially greater proportion of prosobranch families (64.3%) than opisthobranchs (21.7%) have at least one endemic species. Families with the greatest number of endemic species (Table 4) are taxonomically disparate. There is no clear increase in endemicity among families which lack benthic larval stages. The two families with the greatest number of endemic species are the Volutidae and the Muricidae. Volutes lack a planktonic veliger stage; most muricids have a planktonic stage, but some species emerge from the eggs as crawling juveniles (Wilson 1994).

Table 1 Western Australian shallow water marine gastropods categorized into the biogeographic regions of tropical, temperate and endemic to Western Australia.

	Tropical	Temperate	Endemic	Total
Prosobranchs	719	248	114	1081
Opisthobranchs	135	32	15	182
Total	854	280	129	1263

Table 2. Geographical regions inhabited by Western Australian shallow water endemic marine gastropods. North, north coast northeast from North West Cape; West, west coast between Cape Leeuwin and North West Cape; South, south coast eastwards from Cape Leeuwin.

	North	West	South	Total
Prosobranchs	56	73	41	170
Opisthobranchs	-	14	6	20
Total	56	87	47	190*

* this is greater than the 129 endemic species because some occur on more than one coast

Table 3 Distribution by families of marine gastropod species endemic to Western Australia

	Total families	Families with endemic species
Prosobranchs	56	36
Opisthobranchs	40	10
Total	96	46

Table 4. Marine gastropod families with the greatest numbers of species endemic to Western Australia.

Family	Number of species		
	Known from WA	Endemic to WA	Percent endemic
Muricidae	87	10	11.5
Volutidae	27	9	33.3
Turridae	33	9	27.3
Trochidae	93	8	8.6
Turbinidae	41	6	14.6
Conidae	77	6	7.8
Fissurellidae	31	5	16.1
Littorinidae	16	5	31.3
Terebridae	37	5	13.5
Elysiidae	12	5	41.6
Buccinidae	91	5	5.5

Figures 1-6. Western Australian endemic species referred to in the text. — 1. *Amoria macandrewi* (Sowerby, 1887). 2. *Angaria tyria* (Reeve, 1843). 3. *Cerithidea reidi* Houbrick, 1986. 4 *Campanile symbolicum* Iredale, 1917. 5. *Turbo intercostalis* Menke, 1843. 6. *Cronia avellana* (Reeve, 1846).

Figure 7. Western Australian endemic species referred to in the text: *Chromodoris westraliensis* (O'Donoghue, 1924)

Figures 8-10. Species of *Cronia*. — 8. *Cronia avellana* (Reeve, 1846). 9. Intermediate specimen from the Kimberley. 10. *Cronia aurantiaca* (Hombron & Jacquinot, 1835)

The ranges of individual species endemic to Western Australia vary considerably. The volute *Amoria macandrewi* (Sowerby, 1887) (Fig. 1) has a restricted range of less than 100 km on the north coast, from Barrow Island to the Monte Bello Islands. In contrast the thaid *Cronia avellana* (Reeve, 1846) (Fig. 6) and the nudibranch *Chromodoris westraliensis* (O'Donoghue, 1924) (Fig. 7) both extend from Albany on the south coast to the Kimberley, a range of thousands of kilometres.

DISCUSSION

In considering the overall principles of endemicity among Western Australian molluscs, the validity of the data should first be examined. There are inevitably taxonomic judgments involved over whether some of the Western Australian forms are valid species. Of the 129 endemic species recognized in the publications examined, 57 have been described since 1970; 11 of the opisthobranchs have been described since 1985 (Table 5). Few of the species presently considered to be endemic to Western Australia have been examined in revisionary work and it is possible that in time intermediate forms will be found and species currently considered to be endemic to Western Australia will be synonymized with species occurring outside the state. In addition, it is possible the species will remain valid, but their known distributions will be expanded beyond the state border. Despite these reservations, some of the recently described species are clearly endemic to Western Australia. The potamidid *Cerithidea reidi* Houbrick, 1986, for example (Fig. 3), is certainly a valid species and is restricted to the north coast of Western Australia, from North West Cape to the Kimberley. Recent collecting in the eastern Kimberley and Northern Territory mangroves which searched for *C. reidi* has not recorded the species (Wells, unpublished).

Similarly, there is variation in the certainty of well known species described in the last century or early this century. *Campanile symbolicum* Iredale, 1917 (Fig. 4) for example is a relict species from a genus well known from the Eocene, first described from the Paris Basin. Living populations of *C. symbolicum* occur in the southwest of Western Australia, from Esperance to Geraldton where it has been well studied (Houbrick, 1981; 1989). In contrast, *Angaria tyria* (Reeve, 1843) (Fig. 2) is considered by Wilson (1993) to be a valid species, but Springsteen and Leobrera (1986) consider it to be a form of *Angaria delphinus* (Linné, 1758). The vast majority of specimens of the widely distributed *Cronia avellana* (Fig. 8) mentioned above can be easily differentiated from *Cronia aurantiaca* (Hombron & Jacquinot, 1835) (Fig. 10) of the Northern Territory and Queensland. However, intermediate forms (Fig. 9) have recently been found in the Kimberley and the status of the intermediate populations has not been investigated.

A considerably larger proportion (64.3%) of prosobranch families examined have endemic species than opisthobranchs (21.7%). While this may in fact be a real difference, at least part of it is a reflection of the nature of the data sets. The information on prosobranchs (basically Wilson 1993; 1994) is comprehensive, while the opisthobranch data is based on Wells and Bryce (1993), who present an introduction to the group in Western Australia and emphasize species unique to the state.

While endemic species constitute only a small proportion of the total diversity of shallow water marine biota in Western Australia, individual species can be ecologically significant. The best example of this is the Western Rock Lobster, *Panulirus cygnus* George, 1962 which is fished over the entire west coast of Western Australia and is the most important single fisheries species on the entire continent with an annual value to the fishermen of over $ 250 million Australian dollars. The only quantitative data on the importance of endemic marine molluscs are for the Perth area (Wells, 1985). Four sites were surveyed. Endemic species were relatively unimportant on two coastal limestone platforms along the Perth metropolitan coastline, where they constituted only 3 of 62 species examined (13.4%) and less than 0.1% of the total molluscan density and biomass. Molluscs in this area are predominantly temperate species. In comparison, two platforms at the western end of Rottnest Island, some 30 km offshore had a significantly greater proportion of tropical species as a result of the Leeuwin Current bringing tropical water to the south. Endemic

species were also more important at Rottnest, with 8 species out of 91 and 0.7-1.1% of the total mollusc density and 13.8-24.4% of total mollusc biomass; almost all of the biomass of endemic species was contributed by the large turbinid *Turbo intercostalis* Menke, 1843 (Fig. 5).

The discussion of molluscs endemic to Western Australia has been devoted entirely to gastropods only because the distribution patterns of species in the other classes are so poorly known. However, endemics are known to occur in all other classes except Monoplacophora. No monoplacophorans are known from Western Australia, and in any event the group occurs at depths too great to be considered here. Endemic species have been discussed or described in a number of papers such as Wilson and Stevenson (1977; cardiid bivalves), Adam (1979; sepiid cephalopods), Iredale and Hull, 1927; polyplacophorans), and Scheltema (1995; aplacophoran). Proportions of endemic species in these groups are small but the exact level is unknown. The sole exception is the Aplacophora, in which the only species known to occur in Western Australia was recently described as an endemic. In the absence of detailed data on other groups, the level of endemicity and distributional patterns found in the gastropods must be considered representative of molluscs in general.

Little is known of the origins or age of endemic species in Western Australia. Most of the WA endemics are related to tropical forms, and presumably originated from them, though there are also species related to present day southern temperate molluscs. Ludbrook (1984) recorded four species which are currently limited to Western Australia in the Quaternary of South Australia. This indicates both that the species were extant in the Quaternary and that their ranges subsequently changed with climatic variations.

The phenomenon of a biogeographic overlap zone in Western Australia and the presence of endemic species is not restricted to the state. A similar overlap region occurs on the east coast of Australia, between Sandy Cape, Queensland and Cape Howe on the border between New South Wales and Victoria. In both the east and west coasts the position of the overlap zone has changed with variations in climate and current structure (Wilson and Allen, 1987). In Western Australia larvae of tropical species are carried southwards on the Leeuwin Current, and there is evidence that the intensity of southward transport varies on an annual basis with current strength (Maxwell and Cresswell, 1981; Morgan and Wells, 1991).

ACKNOWLEDGEMENTS

I thank Clay Bryce of the Western Australian Museum for photographing and printing the figures.

LITERATURE CITED

Adam W., 1979. The Sepiidae (Cephalopoda, Decapoda) in the collections of the Western Australian Museum. *Records of the Western Australian Museum* **7**: 109-212.

Houbrick R.S., 1981. Anatomy, biology and systematics of *Campanile symbolicum* with reference to adaptive radiation of the Cerithiacea (Gastropoda: Prosobranchia). *Malacologia* **21**: 263-289.

Houbrick R.S., 1989. *Campanile* revisited. *American Malacological Bulletin* **7**: 1-6.

Hutchins J.B., 1994. A survey of the nearshore reef fish fauna of Western Australia's west and south coasts. *Records of the Western Australian Museum*, Supplement **46**: 1-66.

Iredale T. & Hull A.F.B., 1927. *A monograph of the Australian loricates*. Royal Zoological Society of New South Wales.

Kosuge S., 1985. Noteworthy Mollusca from north-western Australia (1). Preliminary report. *Bulletin of the Institute of Malacology*, Tokyo **2**: 58-59.

Ludbrook N.H., 1984. Quaternary molluscs of South Australia. *South Australian Department of Mines and Energy, Handbook* 9: 1-327.

Marsh L.M., 1976. Western Australian Asteroidea since H.L. Clark. *Thalassia Jugoslavica* **12**: 213-225.

Maxwell J.D.H. & Cresswell G.R., 1981. Dispersal of tropical marine fauna to the Great Australian Bight by the Leeuwin Current. *Australian Journal of Marine and Freshwater Research* **32**: 493-500.

- 6 NOV. 1997

Morgan G. J. & Wells F. E., 1991. Zoogeographic provinces of the Humboldt, Benguela and Leeuwin Current systems. *Journal of the Royal Society of Western Australia* **74**: 59-69.

Scheltema A. (in press). *Falcidens poias*, a new species of chaetoderm Aplacophora from Rottnest Island, Western Australia (Chaetodermorpha, Chaetodermatidae). Molluscan Research 16.

Springsteen E.J. & Leobrera F.M., 1986. *Shells of the Philippines*. Manila, Carfel Shell Museum.

Wells F.E., 1980. The distribution of shallow-water marine prosobranch gastropod molluscs along the coastline of Western Australia. *Veliger* **22**: 232-247.

Wells F.E., 1985. Zoogeographical importance of tropical marine mollusc species at Rottnest Island, Western Australia. *Western Australian Naturalist* **16**: 40-45.

Wells F.E., 1990. Revision of the Recent Australian Turridae referred to the genera *Splendrillia* and *Austrodrillia*. *Journal of the Malacological Society of Australia* **11**: 73-117.

Wells F.E., 1991. A revision of the Recent Australian species of the turrid genera *Clavus*, *Plagiostropha* and *Tylotiella*. *Journal of the Malacological Society of Australia* **12**: 1-33.

Wells F.E., 1993. New records of *Splendrillia* (Gastropoda: Turridae) from northwestern Australia, with description of a new species. *Journal of the Malacological Society of Australia* **14**: 113-117.

Wells F.E. & Bryce C.W., 1993. *Sea slugs of Western Australia*. Western Australian Museum, Perth.

Wilson B.R., 1993. *Marine shells. Prosobranch gastropods*. Odyssey Publishing, Kallaroo, Western Australia. Volume 1.

Wilson B.R., 1994. *Marine shells. Prosobranch gastropods*. Odyssey Publishing, Kallaroo, Western Australia. Volume 2.

Wilson B.R. & Allen G.R., 1987. Major components and distribution of marine fauna. Pp. 43-68. In: Fauna of Australia. General articles. (Dyne G.R. & Walton D.W., eds.). Canberra, Australian Government Publishing Service. Volume 1A.

Wilson B.R. & Gillett K., 1971. *Australian shells*. A.H. & A.W. Reed, Sydney.

Wilson B.R. & Stevenson S., 1977. Western Australian Cardiidae. *Western Australian Museum, Special Publication* **9**: 1-114.

BIBL. DU MUSÉUM PARIS

Normes diverses

Les noms de taxa devront être cités et utilisés conformément au Code International de Nomenclature Zoologique (édition de 1985). Les noms génériques ou spécifiques seront écrits en *italique*, les noms de familles ou de divisions d'un rang plus élevé, en caractères normaux. Un nom spécifique, générique ou familial apparaissant pour le première fois dans le texte devra être accompagné de son auteur et date de publication. On évitera les tournures de phrases donnant lieu à confusion entre une référence bibliographique et l'auteur et date d'un taxon.

La bibliographie comprendra toutes les références citées dans le texte, et uniquement celles-ci. Toutefois, les références citées uniquement en tant qu'auteur et date d'un taxon ne sont pas obligatoirement incluses dans la bibliographie. Les titres des périodiques doivent apparaître *in extenso*. Les références seront citées selon un des modèles suivants:

Bourguignat J.R., 1857. Aménités malacologiques. *Revue et magasin de zoologie* (2)9: 3-31, pl. 1-4.

Swofford D.L. & Olsen G.J., 1990. Phylogeny reconstruction. *In:* Molecular systematics. (D.M. Hillis & C. Morris, eds.) : 411-501. Sinauer Associates, Sunderland, Massachussets.

Dans le texte, on citera les références sous la forme "... selon Hall (1986)... ", " (Hall and Smith, 1986)", (Richardson *et al.*, 1985)...". Pour plusieurs articles d'un même auteur et d'une même date, on utilisera la forme "1985a, 1985b..."

Les tirés-à-part devront être commandés au moment des épreuves. Pour chaque article, 25 tirés-à-part gratuits seront envoyés aux auteurs. Des tirés-à-part supplémentaires, payants, pourront être commandés au même moment.

Comité de rédaction

Patrick ARNAUD	Station Marine d'Endoume, Rue de la Batterie des Lions, 13007 Marseille
Alan BEBBINGTON	3 Crawley Lane, Uley, Nr Dursley, Glos GL11 5 BJ, GrandeBretagne
Alain BODOY	IFREMER, Rue de l'Ile d'Yeu,B.P. 1049 - 44037 Nantes cedex 01
Pio FIORONI	Universität Münster, Institut für Spezielle Zoologie und Vergleichende Embryologie, Hüfferstraße 1, D-48149 Münster, Allemagne
Serge GOFAS	Muséum National d'Histoire Naturelle, Laboratoire de Biologie des Invertébrés Marins et Malacologie, 55 rue de Buffon, 75005 Paris
Marcel LE PENNEC	Laboratoire de Zoologie, Faculté des Sciences , 6 avenue Le Gorgeu, 29283 Brest cedex
Pierre LUBET	Laboratoire de Zoologie, I.B.B.A., Faculté des Sciences, 14032 Caen cedex
Mathieu POULICEK	Laboratoire d'Ecologie marine, Institut de Zoologie, Université de Liège, 22 Quai van Beneden, B - 4020 Liège, BELGIQUE
JeanTARDY	Laboratoire de Biologie, Biochimie marines et Phytoécologie, IUT, Rue François de Vaux de Foletier, 17026 La Rochelle cedex
Nardo VICENTE	C.E.R.A.M., Faculté des Sciences et Techniques de Saint Jérôme, 13397 Marseille cedex 13

Directeur de la publication : Marc VIANEY-LIAUD, Président de la S.F.M.
Coordonnateur de ce volume : Serge GOFAS

Société Française de Malacologie - siège : 55, rue Buffon; F-75005 Paris ISSN: 0397.765 X
Imprimé en Espagne par Imprenta Loredo (Gijón) - Achevé d'imprimer le 31 mars 1997

Sommaire

R. ROBERT & P. TRINTIGNAC
Microalgues et nutrition larvaire en écloserie de mollusques 1

A. DE GRISSE, J. DEFLOOR & F. VERCAUTEREN
Effet de l'addition de terre aux aliments composés pour escargots sur la croissance de *Helix aspersa maxima* 15

J. A. TRIGWELL G. B. J. DUSSART & M. VIANEY-LIAUD
Mating strategies in the freshwater hermaphrodite snail *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818) (Gastropoda: Pulmonata) 25

M. GHAMIZI, J.-C. VALA & H. BOUKA
Le genre *Pseudamnicola* au Maroc avec description de *Pseudamnicola pallaryi* n. sp. (Gastropoda: Hydrobiidae) 33

M. IDHALLA, A. BOUHAIMI, A. ZEKHNINI, J.-F. NARBONNE, M. MATHIEU & A. MOUKRIM
Etude du cycle de reproduction de deux espèces de moules *Perna perna* (Linné, 1758) et *Mytilus galloprovincialis* Lamarck, 1819 dans la baie d'Agadir (Sud du Maroc) 51

N. BEJAOUI ALOUI, M. LE PENNEC, F. MAAMOURI, A. HANACHI & D. MORAGA
Données préliminaires sur la variabilité génétique d'une population méditerranéenne de *Mytilus galloprovincialis* 63

F. E. WELLS
Shallow water marine gastropods endemic to Western Australia 73